

# **Contribution à l'étude de la pathologie virale des anatides: oies et canards**

## **Diagnostic expérimental**

---

THÈSE

présentée

à L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 21 Décembre 1976

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Marc MACKOWIAK

né le 23 Avril 1951

à LYON (6°)

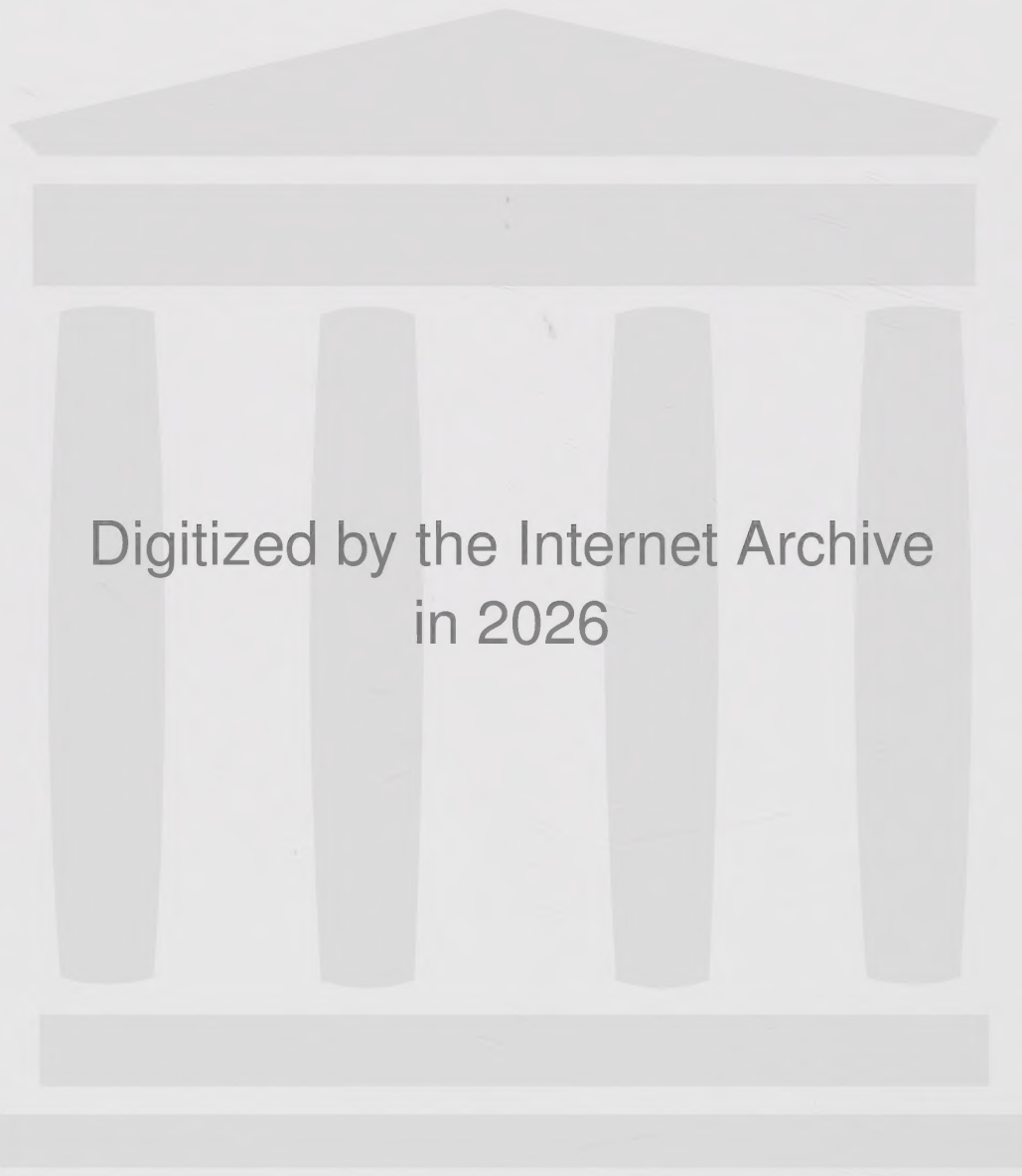


ASSOCIATION AMICALE  
DES ETUDIANTS EN PHARMACIE DE LYON  
UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD  
8, Avenue Rockefeller, 8  
69373 LYON Cedex 2

LYON - 1976







Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41554206\\_0090](https://archive.org/details/IA41554206_0090)

# **Contribution à l'étude de la pathologie virale des anatides: oies et canards**

## **Diagnostic expérimental**

---

THÈSE

présentée

à L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 21 Décembre 1976

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Marc MACKOWIAK

né le 23 Avril 1951

à LYON (6°)



ASSOCIATION AMICALE  
DES ÉTUDIANTS EN PHARMACIE DE LYON  
UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD  
8, Avenue Rockefeller, 8  
69373 LYON Cedex 2

LYON - 1976

# Contribution à l'étude de la pathologie virale des anidés : oies et canards Diagnostic expérimental

THÈSE

présentée

à l'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine-Vétérinaire)

et soutenue publiquement le 21 Décembre 1976  
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

UNIV.  
LEIDEN  
BIBL.

A LYON (87)



UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD  
FACULTÉ DE MÉDECINE VÉTÉRINAIRE  
BIBLIOTHÈQUE  
1976

PERSONNEL ENSEIGNANT de l' ECOLE  
NATIONALE VETERINAIRE de LYON

---

DIRECTEUR ..... Monsieur le Professeur FROGET  
DIRECTEURS HONORAIRES ..... Messieurs les Professeurs JUNG,  
TAPERNOUX, FLORIO.

PROFESSEURS :

1° - Pharmacie et Toxicologie ..... M. LORGUE  
2° - Anatomie descriptive - Extérieur - Anatomie  
appliquée ..... M. BARONE  
3° - Physiologie -Thérapeutique - Pharmacodynamie.. M. BOST  
4° - Histologie - Embryologie - Anatomie patho-  
logique ..... M. LUCAM  
5° - Hygiène et Industrie des aliments d'origine  
animale ..... M. FLACHAT  
6° - Parasitologie et Maladies Parasitaires ..... M. EUZEBY  
7° - Pathologie médicale des équidés et des carnivores  
Législation vétérinaire ..... M. FONTAINE  
8° - Pathologie médicale du bétail et des animaux de  
basse-cour ..... M. COTTEREAU  
9° - Technique Chirurgicale - Pathologie Chirur-  
gicale .. ..... M. COULON  
10° - Obstétrique - Pathologie de la Reproduction .... M. BERTRAND  
11° - Pathologie générale - Microbiologie - Immuno-  
logie ..... M. OUDAR  
12° - Ethnologie - Zootechnie - Economie Rurale..... M. FROGET



- 13° - Botanique appliquée - Agronomie - Alimentation ... M. WOLTER  
14° - Physique et Chimie biologiques et médicales..... M. MAGAT  
15° - Maladies contagieuses - Zoonoses - Législation  
sanitaire ..... M. JOUBERT

#### PROFESSEURS SANS CHAIRE

M. FERNEY (détaché à l' Institut de Médecine et Sciences Vétérinaires  
de DAKAR),

MM CHANTEGRELET, DELATOUR, DESCHANEL, JEAN-BLAIN,  
LAPRAS, le NIHOUANNEN.

#### MAITRES DE CONFERENCES

MM BOIVIN, GASTELLU, MOUTHON

#### MAITRES-ASSISTANTS

Mme CHAUVE, MM FARGES, FRANCK, GEVREY, KECK,  
Melle LAVAL, MM LEGEAY, PAYAN, PRAVE, Mme RACHAIL,  
M. RICHARD.

#### ASSISTANTS

MM BASSIER, BELLI, BILLIONNET, CHERMETTE, CHEVRIER,  
DEGUELLE, EUZEBY, FAU, GARNIER, GOSSE, GOUY, HARS,  
LABE, TIANO, VILLON.



EXAMINATEURS DE LA THESE

PRESIDENT : Monsieur le Professeur BERTOYE  
de la FACULTE de MEDECINE

PREMIER ASSESSEUR : Monsieur le Professeur COTTEREAU  
de l' ECOLE NATIONALE VETERINAIRE

DEUXIEME ASSESSEUR : Monsieur le Professeur OUDAR  
de l' ECOLE NATIONALE VETERINAIRE

---

L' Université Claude Bernard (Médecine-Pharmacie) de LYON et  
l' Ecole Nationale Vétérinaire de LYON, déclarent que les opinions  
émises dans les dissertations qui leur sont présentées, doivent être  
considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent  
leur donner ni approbation ni improbation.



A MA FEMME

A MES PARENTS



A Monsieur le Professeur BERTOYE  
Professeur à la Faculté de Médecine de LYON

pour l'honneur qu'il nous a fait  
d'accepter la présidence du Jury  
de notre Thèse.

Hommage respectueux.



A Monsieur le Professeur COTTEREAU

Professeur à l' Ecole Nationale Vétérinaire de LYON

pour le sujet qu'il nous a proposé,  
l'intérêt qu'il a porté à notre travail  
et les conseils dont il nous a entouré.

Qu'il trouve ici le témoignage de notre  
profonde reconnaissance.

A Monsieur le Professeur OUDAR

Professeur à l' Ecole Nationale Vétérinaire de LYON

pour l'honneur qu'il nous a fait en  
acceptant d'être membre de notre Jury  
de Thèse.

Hommage respectueux.



Au Docteur Vétérinaire D. GAUDRY

spécialement confirmé dans ce domaine de la  
pathologie  
qui nous a fait bénéficier de sa haute compétence  
sans mesurer son temps.  
Amicale et profonde reconnaissance.

Au Docteur Vétérinaire R. CAMAND

qui nous a guidé dans la rédaction de cette  
thèse avec une bienveillante attention et un  
amical dévouement.  
Respectueuse gratitude.

A Madame M. MARILLER

pour l'aide précieuse qu'elle nous a prodiguée  
avec une amabilité et une gentillesse perma-  
nentes.  
Sincères remerciements.



# SOMMAIRE

|                    |   |
|--------------------|---|
| AVANT-PROPOS ..... | 1 |
| INTRODUCTION ..... | 2 |

## 1ère PARTIE

|                                                    |    |
|----------------------------------------------------|----|
| PRINCIPALES MALADIES VIRALES des ANATIDES.....     | 6  |
| I - HEPATITE A VIRUS DU CANETON .....              | 9  |
| II - PESTE DU CANARD .....                         | 20 |
| III - MALADIE DE DERZSY .....                      | 31 |
| IV - AUTRES MALADIES VIRALES DES ANATIDES .....    | 52 |
| - Adénovirus .....                                 | 52 |
| - Myxovirus (ou influenza).....                    | 54 |
| - Réovirus.....                                    | 55 |
| - Néphrite et Entérite hémorragique de l'oie ..... | 56 |

## 2ème PARTIE

|                                                                                |    |
|--------------------------------------------------------------------------------|----|
| L'AVENIR DU DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL DES MALADIES<br>A VIRUS DES ANATIDES ..... | 59 |
| I - DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL .....                                              | 61 |
| I - Etape préliminaire .....                                                   | 61 |
| - commémoratifs .....                                                          | 61 |
| - nature et expéditions des prélèvements .....                                 | 61 |
| - recherche d'une bactérie pathogène .....                                     | 62 |



|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| II - Diagnostic expérimental des virus en général .....                                         | 63 |
| 1. Locaux .....                                                                                 | 63 |
| 2. Matériel .....                                                                               | 64 |
| 3. Méthodes générales .....                                                                     | 65 |
| A - Multiplication du virus .....                                                               | 66 |
| B - Identification du virus .....                                                               | 74 |
| III - Application au diagnostic expérimental des grandes<br>maladies à virus des anatidés ..... | 78 |
| II - DISCUSSION .....                                                                           | 86 |
| CONCLUSIONS .....                                                                               | 92 |
| ANNEXE I           SYSTEMATIQUE DES ANATIDES .....                                              | 94 |
| ANNEXE II          COMPOSITION MILIEU F 10 et PBS .....                                         | 96 |
| ANNEXE III         COMPOSITION de la TRYPSINE .....                                             | 97 |
| ANNEXE IV          QUESTIONNAIRE-COMMEMORATIF .....                                             | 98 |
| BIBLIOGRAPHIE .....                                                                             | 99 |



## ABREVIATIONS

---

|                |                                              |
|----------------|----------------------------------------------|
| BFR            | : broyat de foie et rate                     |
| CT             | : culture de tissu                           |
| DIE 50         | : dose infectieuse embryon 50 %              |
| DLE 50         | : dose létale embryon 50 %                   |
| DLCB 50        | : dose létale canard de Barbarie 50 %        |
| ECP            | : effet cytopathogène                        |
| F 10 C         | : milieu F 10 pour croissance des cellules   |
| F 10 E         | : milieu pour entretien des cellules         |
| HVC            | : hépatite à virus du caneton                |
| IN             | : index de neutralisation                    |
| MCA            | : membrane chorio-allantoïdienne             |
| NEHO           | : néphrite et entérite hémorragique de l'oie |
| S <sup>+</sup> | : sérum hypermimmun                          |
| S <sup>-</sup> | : sérum indemne d'anticorps                  |
| SPF            | : specific pathogen free.                    |



## AVANT-PROPOS

Au cours des vingt dernières années, le développement de l' aviculture a été tel que tous les progrès réalisés en matière d'élevage, d'industrialisation et de thérapeutique ont entraîné parallèlement une modification considérable de la pathologie aviaire. Le fait d'avoir d'une part éliminé, grâce aux améliorations des techniques d'hygiène et d'alimentation, la plupart des affections fréquentes autrefois, et de pouvoir d'autre part, avec la gamme actuelle des antibiotiques, enrayer les principales maladies bactériennes, a laissé la voie libre à toutes les infections virales dont le tableau clinique se confondait plus ou moins avec celui des autres maladies. Aussi, assistons-nous depuis quelques années à des épizooties explosives entraînant des hécatombes spectaculaires dont l'incidence économique est désastreuse.

Une telle situation oblige à envisager des moyens de lutte, en l'occurrence les vaccins, d'autant plus efficaces qu'un diagnostic immédiat et pratique peut être posé. C'est ce que nous avons voulu étudier en nous attachant plus particulièrement à quelques infections virales des palmipèdes, d'actualité non seulement nationale mais mondiale et en insistant spécialement sur l'hépatite à virus du caneton, la peste du canard, la maladie de Derzsy.



## INTRODUCTION \*

Si l'oie et le canard ont connu leur consécration au niveau du grand public au gré de leurs différentes accommodations culinaires et d'un approvisionnement du marché de plus en plus important, cela n'a pu se faire qu'à la faveur d'un développement intensif des élevages. C'est ainsi que la France s'est vue pratiquement placée en position de monopole mondial dans la production du canard de Barbarie et que, déjà, la loi de la concurrence commence à jouer avec les pays de l'Est.

Compte tenu de l'importance économique de ce domaine, il y a donc lieu de mettre tout en oeuvre pour sauvegarder ces ressources. Il suffit d'ailleurs pour illustrer la valeur d'un tel marché de prendre en considération, dans les tableaux I, II, III et IV, les chiffres les plus récents qui, bien qu'imprécis du fait d'une auto-consommation et d'un marché parallèle indéniable, n'en donnent pas moins une physiologie générale de la tendance actuelle de la consommation.

Dans de telles conditions, il est évident que toute maladie à caractère extensif, au sein d'élevages industriels d'anatidés constitue pour l'éleveur un risque majeur dont dépend son avenir. Toutefois, il importe d'apprécier le degré de ce risque en prenant en considération seulement les maladies les plus dangereuses. Car, la pathologie de ces

\* Pour éviter toute confusion des termes " palmipèdes " et " anatidés ", nous nous sommes référés à la classification de Grassé donnée dans l'annexe n° I. Dans la suite du texte, nous emploierons indifféremment les deux termes pour désigner les oies et les canards d'élevage industriel.



animaux n'est pas nouvelle et les différentes maladies nutritionnelles dues aux conditions d'hygiène comme à l'alimentation ainsi que beaucoup d'affections parasitaires ( coccidiose, ascaridiose, etc... ) ou bactériennes ( salmonellose, pasteurellose, etc... ) sont connues de longue date et combattues avec succès. Restent les affections d'origine virale auxquelles on a cru longtemps que les palmipèdes étaient réfractaires, toute contagion ou mortalité étant attribuée aux bactéries. Or, la preuve du contraire a été apportée, il y a deux décennies déjà, et les études et recherches sur ces sujets, menées d'abord séparément dans le monde, ont conduit, en 1973, à la création d'un comité international.

Devant les ravages causés par ces épizooties, dues à des virus de connaissance très récente pour certains, et face aux problèmes que cela posait tant pour leur diagnostic que pour leur prévention, les moyens thérapeutiques étant pratiquement nuls, nous avons tenté de faire le point dans ce domaine. C'est pourquoi, l'étude que nous proposons s'attachera :

- dans une première partie, à présenter des monographies résumées des trois principales maladies suivantes :

- l'hépatite à virus du caneton,
- la peste du canard,
- la maladie de Derzsy,

en terminant par un survol des autres maladies d'origine virale des palmipèdes.

- dans une deuxième partie, à décrire les techniques de diagnostics de laboratoire de ces maladies pour montrer que leur utilisation est accessible aux laboratoires de diagnostics existant en France.



TABLEAU I - VIANDES : tonnage de production et de vente.

| FACTEUR \ ESPECE                                                            | OIE          | CANARD                              |
|-----------------------------------------------------------------------------|--------------|-------------------------------------|
| Tonnage d'abattage en France en 1973                                        | 12 500 t     | 36 000 t                            |
| Pourcentage d'abattage/ toutes volailles abattues en France                 | 1,5 %        | 4 %                                 |
| Tonnage des viandes arrivées aux Halles de Paris en<br>1973<br>1974<br>1975 |              | 3 209,8 t<br>3 677,3 t<br>3 386,9 t |
| Importations de viandes en 1973                                             | 643 t        | 1 260,7 t                           |
| Exportations de viandes en 1973                                             | 28 t         | 335,7 t                             |
| Déficit export. /import. en francs                                          | 3,9 millions |                                     |

TABLEAU II - VIANDES : Prix 1975 aux Halles de Paris

| type de viande \ Prix ( F/ Kg) | Prix maximum | Prix minimum | Prix moyen |
|--------------------------------|--------------|--------------|------------|
| Canard Barbarie mâle           | 9,56         | 5,62         | 7,57       |
| Canard Barbarie femelle        | 13,75        | 9,11         | 11,12      |
| Canard " autres espèces "      | 8,00         | 4,33         | 5,39       |
| Canard " croisé sauvage "      | 8,82         | 5,41         | 6,75       |
| Oie maigre " en peau "         | 13,00        | 12,00        | 12,50      |
| Oie grasse " en peau "         | 12,50        | 11,00        | 11,50      |



TABLEAU III - FOIE GRAS FRAIS mis en oeuvre par les conserveurs.

| Facteur                                                                | Année | 1971-1972 | 1972-1973 | 1973-1974 |
|------------------------------------------------------------------------|-------|-----------|-----------|-----------|
|                                                                        |       |           |           |           |
| Quantité mise en oeuvre                                                |       | 778 t     | 908 t     | 966 t     |
| -                                                                      |       |           |           | -         |
| Part de la production française                                        |       | 330 t     | 370 t     | 344 t     |
| -                                                                      |       |           |           | -         |
| Quantité importée ( foie frais )                                       |       | 448 t     | 538 t     | 667 t     |
| -                                                                      |       |           |           | -         |
| Exportation de conserves à base de foie gras ( $\geq$ 10 % foie gras ) |       | 308,5     | 451,4 t   | 667,3 t   |

- ces chiffres sont un peu théoriques car une certaine quantité de foie d'importation est consommée en frais.
- pour le foie frais mis en oeuvre, il faut compter à peu près 70 % en foie d'oie et 30 % en foie de canard.

TABLEAU IV - PRIX du FOIE GRAS 1974 - 1975 en Frs /Kg

| Qualité | extra | 1ère | gros | 2ème | Purée |
|---------|-------|------|------|------|-------|
|         |       |      |      |      |       |
| Espèce  |       |      |      |      |       |
| OIE     | 154   | 142  | 112  | 116  | 72    |

| Qualité | Extra A<br>(restaurants ) | Extra B<br>(conserveries) | 2ème |
|---------|---------------------------|---------------------------|------|
|         |                           |                           |      |
| Espèce  |                           |                           |      |
| CANARD  | 94                        | 80                        | 60   |



## 1ère Partie

### PRINCIPALES MALADIES VIRALES des ANATIDES

Pour faciliter la compréhension de notre démonstration et rester dans l'actualité du sujet, nous avons orienté notre choix de façon à illustrer, sur la base de situations épizootologiques relativement récentes, les problèmes posés par le diagnostic de telles maladies. C'est pourquoi, avant de procéder à l'examen des trois exemples retenus complété par un aperçu des autres maladies, nous avons pensé judicieux d'aborder au préalable quelques considérations d'ordre historique.

En effet, il importe de rappeler le contexte particulier dans lequel a évolué la pathologie propre aux oies et aux canards durant ces dix dernières années, pour saisir les raisons qui nous ont conduits à étudier plus spécialement les maladies qui vont suivre.

D'une part, le début de l'industrialisation des élevages d'oies et surtout de canards de Barbarie remonte aux années 1963-1966. Si cette industrialisation s'est peu développée pour l'oie, en France, contrairement aux pays de l'Europe de l'Est, il en a été différemment pour le canard de Barbarie dont l'élevage est une originalité française. Quoi qu'il en soit, les améliorations apportées de ce fait aux conditions d'hygiène et l'application de thérapeutiques modernes contre les maladies microbiennes ont été sans succès sur certaines manifestations enzootiques. Les vétérinaires et les biologistes eurent ainsi leur attention



attirée sur de nouvelles affections à étiologie inconnue et dont le danger s'accroissait avec l'accroissement des concentrations de sujets dans les troupeaux à l'air libre ou dans les locaux fermés.

D'autre part, il y a encore dix ans également, seuls trois spécialistes de certaines maladies virales des palmipèdes étaient connus sur le plan international, à savoir : FABRICANT aux U. S. A. et ASPLIN en Angleterre pour l'hépatite à virus du caneton, JANSEN en Hollande pour la peste du canard. Il a fallu ensuite qu'une souche de virus de la peste du canard soit isolée aux U. S. A. par DARDIRI et que DERZSY en Hongrie multiplie ses recherches sur la pathologie des oies pour éveiller à nouveau l'intérêt porté aux maladies virales des palmipèdes.

Dès lors des vaccins ont pu être appliqués dont l'usage malgré tout n'a pas empêché la persistance de troubles pathologiques chez les sujets traités, en particulier chez l'oie et le canard de Barbarie. Différentes études entreprises entre 1969 et 1972 pour tenter d'expliquer ce fait ont permis d'isoler de nombreux agents viraux en Allemagne, en Hongrie, en France, en Italie. Ce n'est cependant que grâce aux efforts d'un comité de virologistes créé sous l'égide de la World Poultry Science Association en 1971 qu'il fut possible de démontrer que la quasi-totalité des virus appartenaient au même sérotype ( Parvovirus ) et étaient responsables de la maladie de Derzsy.

A nouveau, en 1976, les mêmes opérations que précédemment furent lancées pour cette maladie : préparation de vaccins et vaccination avec observation des résultats très favorables chez le canard de Barbarie mais beaucoup moins chez l'oie. Il semble bien finalement, pour cette dernière espèce, qu'actuellement il y a bien régression de la maladie de Derzsy grâce à la vaccination, mais apparition simultanée d'une autre affection d'étiologie encore inconnue.



Tout se passe donc comme si tout nouveau succès immunologique, à un moment donné, dévoilait l'activité d'un autre agent viral. Cela suffit à démontrer l'intérêt d'un diagnostic différentiel rapide au laboratoire pour éviter les catastrophes économiques et permettre une lutte rapide et efficace. C'est bien là le but de notre propos.



## I - Hépatite à Virus du Caneton

Décrite et identifiée pour la première fois aux Etats-Unis d'Amérique en 1950 par LEVINE et FABRICANT (55), l'hépatite virale du caneton ( HVC ) a été diagnostiquée dans de nombreux pays comme le Brésil, les Etats-Unis, le Canada, le Japon (7-29-56-64) et également en Europe (1-63-69-70-72) où pour la France, GUILLON et RENAULT (27) l'ont signalé dès 1960. Depuis, cette affection s'est étendue d'autant plus que l'élevage de canards se développait, pour atteindre des taux de mortalité de 90 % qui en ont rapidement fait une maladie redoutée des éleveurs.

Se fiant aux lésions observées à l'autopsie des cadavres et à la nature de l'agent causal, les auteurs anglo-saxons ont dénommé cette maladie " Duck Virus Hepatitis" que les auteurs allemands ont traduit par " Virus Hepatitis der Enten " et les auteurs français avec une précision supplémentaire par " Hépatite à virus du caneton" du fait de l'âge des sujets atteints.

### DEFINITION

L'hépatite à virus du caneton (HVC) est une maladie infectieuse, virulente, inoculable, particulière au caneton, due à un ultravirus spécifique appartenant au groupe des Entérovirus.

Elle affecte les canetons (autres que les canetons de Barbarie) dans les premiers jours de la vie et le taux de mortalité peut atteindre 90 %, les animaux présentant des lésions hépatiques de congestion et de nécrose.



## ESPECES AFFECTEES

Les dindes et les poules ne sont pas sensibles au virus de l' HVC dans les conditions naturelles (55). Il semble que seuls les jeunes canards autres que de Barbarie, âgés de moins de cinq semaines soient sensibles. Quant aux adultes, ils restent des porteurs sains. Les canards de Barbarie sont naturellement résistants bien que expérimentalement on puisse obtenir 10 % de mortalité chez les jeunes sujets de deux à sept jours. En fait, ils sont considérés comme des réservoirs de virus pouvant constituer un danger dans les élevages où plusieurs espèces de canards sont mélangées.

## SYMPTOMES

Chez les canetons infectés les symptômes sont fugaces sans généralement dépasser une heure. Les sujets commencent par se tenir en arrière du reste du troupeau qu'ils semblent incapables de suivre puis, rapidement, ils cessent de se mouvoir et demeurent dans une attitude somnolente. Placés sur le dos, ils ont de grandes difficultés à se redresser (1). Leurs yeux deviennent mi-clos et la mort s'ensuit en quelques minutes. Les canetons tombent alors sur le côté, présentent des mouvements spasmodiques de pédalage et meurent, la tête en opisthotonos. Pratiquement, tous les cas de mortalité du troupeau se situent dans un délai de trois ou quatre jours avec un maximum le deuxième jour. Au paroxysme de l'épidémie, la mort survient de façon tellement foudroyante qu'on ne relève aucun symptôme. Quant aux survivants, ils récupèrent rapidement au point que certains canards, apparemment très malades, semblent quelques heures plus tard n'avoir jamais été atteints.



## LESIONS

Les lésions macroscopiques sont, quand elles existent, assez caractéristiques de l' HVC ; elles sont principalement localisées au foie, hypertrophié et subictérique avec des hémorragies pouvant aller de quelques pétéchies aux hémorragies en nappes confluentes. On peut également constater une hypertrophie de la rate pendant la période de virulence et la congestion des reins.

## EPIDEMIOLOGIE - PATHOGENIE

Cette maladie est extrêmement contagieuse puisque, comme nous l'avons déjà dit, 90 % des sujets d'un élevage peuvent succomber en trois à quatre jours. Par ailleurs, bien que la vaccination mise en oeuvre depuis 1967 n'ait pas été généralisée, on n'en a pas moins trouvé des anticorps anti-HVC chez de nombreux animaux à tel point qu'il est pratiquement impossible à l'heure actuelle de trouver pour le laboratoire des oeufs de cane sans anticorps HVC. Ceci tend à prouver que sur le terrain existent des souches pathogènes ou des souches naturellement vaccinales dont la transmission se fait très probablement par contact.

## CARACTERES du VIRUS

Le virus de l'hépatite virale du caneton est un entérovirus qui se multiplie très bien sur l'oeuf embryonné de cane et également, à condition d'avoir été préalablement adapté, sur l'oeuf embryonné de poule dont l'avantage est d'être indemne d'anticorps HVC.

L'opération consiste à inoculer 0,1 ml de suspension virale dans la cavité allantoïque d'oeufs embryonnés de 9 à 13 jours.



Les cas de mortalité au delà de 24 heures après inoculation sont considérés comme spécifiques. Les embryons encore vivants le sixième jour présentent des lésions caractéristiques : nanisme, œdème principalement de la région abdominale, foie verdâtre avec plaques de nécrose, disposition anormale des pattes et le plus souvent couleur verte caractéristique diffusant dans les liquides embryonnaires, due à un excès d'excrétion de la vésicule biliaire.

Il suffit ensuite de filtrer avec une porosité de  $0,3 \mu$  une suspension de broyat d'embryons - de préférence au liquide allantoïque dont l'infectiosité est environ 1000 fois inférieure à celle du broyat - pour obtenir l'antigène qui, inoculé à des embryons de poulet de neuf jours, reproduit les mêmes lésions si la souche est déjà adaptée à l'oeuf embryonné de poule. On a ainsi la preuve de la nature virale de l'agent infectieux.

Les canetons de moins d'une semaine, les oeufs de poule de neuf à onze jours et les oeufs de cane de treize jours sont sensibles à des dilutions considérables de ce virus. Par contre, les canards de trois mois et les poulets de un jour ne présentent aucun symptôme après inoculation.

L'introduction d'un sujet malade ou porteur de virus dans un élevage sain et réceptif déclenche l'apparition des symptômes après deux à quatre jours d'incubation. La pénétration du virus dans l'organisme des canetons se fait très vraisemblablement par voies digestive et respiratoire.

Les recherches de virus HVC effectuées dans les fécès des animaux montrent qu'entre l'âge de deux et six semaines, il y a diminution progressive de l'excrétion du virus (62) le maximum se produisant chez les jeunes canetons dont les fécès ont un titre infectieux élevé.



Quant à la souche vaccinale éliminée par les très jeunes sujets, elle ne l'est plus au bout de trois semaines, et inoculée à des adultes reproducteurs, elle ne diffuse pas.

### DIAGNOSTICS CLINIQUE et NECROPSIQUE

Les commémoratifs jouent un grand rôle dans l'établissement de ces diagnostics. Toute mortalité massive atteignant les canetons de moins de quinze jours au sein d'un élevage de canards communs doit faire penser à l'hépatite à virus du caneton, toute possibilité de pasteurellose étant rejetée. En revanche, l'absence de lésions hémorragiques intestinales à l'autopsie ôte la présomption de peste, d'autant plus que les lésions décrites ci-dessus et notamment les lésions hépatiques permettent de réduire le pourcentage d'erreurs de diagnostic. Toutefois, il importe d'être prudent car certains réovirus peuvent provoquer les mêmes lésions que le virus HVC. C'est pourquoi, seul le diagnostic de laboratoire peut trancher comme nous le verrons ultérieurement.

Du point de vue culture cellulaire, le virus HVC peut se multiplier, sans effet cytopathogène, dans les cellules d'embryons de poulet, de reins de poulet ou de reins de canard ; le surnageant peut atteindre un titre allant de  $10^5$  à  $10^6$  DIE 50\*.

En matière de résistance aux différents agents physiques ou chimiques, HANSON et Coll. (29) ont démontré que le virus HVC reste actif au moins sept ans à  $-20^{\circ}\text{C}$ , de sept à vingt et un jours à  $+37^{\circ}\text{C}$ , quatre semaines à  $+25^{\circ}\text{C}$ , d'où la raison de sa survivance prolongée dans les bâtiments d'élevage infectés. D'autre part, il supporte des pH variant de 4,8 à 7,8 et est sensible à de très nombreux agents chimiques (soude, formol, etc....).

\* DIE 50 : dose infectante embryon 50 %.



Ces mêmes auteurs ont montré qu'on pouvait le lyophiliser avec succès mais l'opération est délicate, entraînant une baisse du titre très souvent importante. Quant à leurs recherches au microscope électronique, elles sont restées sans succès.

## PROPHYLAXIE MEDICALE

Quand l'existence du virus HVC ne fait plus de doute et qu'il y a menace de l'élevage, le traitement étant à l'heure actuelle impossible, on peut avoir recours pour lutter contre l'extension de la maladie ou éviter son apparition, à l'un des deux procédés classiques d'immunisation : immunisation passive ou immunisation active.

La première technique basée sur le principe d'inoculation de sérums riches en anticorps HVC aux canetons de un jour, n'a été utilisée que pendant la période nécessaire à la mise au point d'un vaccin vivant, et elle n'a plus qu'un intérêt historique.

### - Immunisation passive

Dans les premiers temps, cette immunisation passive était obtenue grâce à l'injection d'un sérum provenant, soit de la récolte du sang des canards abattus, soit de celle du sang de canards infectés à cinq semaines avec un virus virulent et saignés trois semaines plus tard. L'injection de ce sérum à des canetons donnait des résultats douteux, c'est pourquoi fut très vite employé un sérum hyperimmun.

Un tel sérum se préparait sur des reproducteurs âgés devenus improproductifs qui étaient hyperimmunisés peu avant leur abattage. L'injection du sérum recueilli à des canetons a donné de bons résultats.



Ce procédé était malheureusement fort coûteux et ne confèrait qu'une protection limitée dans le temps.

- Immunisation active

L'immunisation active est basée sur l'emploi d'un vaccin préparé à partir d'une souche mise au point par RISPENS (62) : souche E 52.

Le principe consiste, dans un premier temps, à vacciner les reproducteurs avant leur entrée en ponte de sorte que les canetons issus de ces reproducteurs naissent avec un taux d'anticorps HVC, transmis par le vitellus, suffisamment élevé pour les protéger pendant les trois premières semaines de vie. Dans un second temps, en fonction du pouvoir pathogène du virus présent dans l'élevage, il conviendra éventuellement de vacciner les canetons en fin d'immunité parentale pour assurer leur protection pendant la totalité de leur période de sensibilité.

a) Souche vaccinale (E 52)

La désignation E de cette souche provient du nom ERMELO, village hollandais où RISPENS a isolé la souche qu'il a atténuée par passages en série sur oeufs embryonnés de poules, dont le 52ème passage est utilisé comme souche vaccinale.

La souche E 52 est inoffensive pour les canetons d'un jour ; elle est suffisamment immunigène pour entraîner, en trois jours, la résistance spécifique de canetons vaccinés, à l'inoculation d'un virus HVC hautement pathogène.



La stabilité génétique de E 52 a été testée par passages en série sur canetons sensibles et le 6ème passage s'est montré aussi inoffensif que la souche vaccinale.

b) Immunisation des canards reproducteurs

La vaccination des reproducteurs a été étudiée en fonction du degré d'immunité passive acquise par leur descendance. Chez les adultes, la souche E 52 s'est révélée posséder le même pouvoir immunigène que des souches pathogènes du terrain.

Une seule vaccination de reproducteurs indemnes d'anticorps HVC entraîne chez leurs descendants une protection d'une durée de deux semaines. Si cette vaccination a lieu chez des sujets ayant été auparavant en contact avec un virus sauvage HVC, la protection est alors de trois semaines. Il est donc apparu clairement que les reproducteurs devaient être vaccinés deux fois avant leur entrée en ponte.

Pour éviter une réaction anticorps-virus vaccinal, la première vaccination doit être effectuée chez des canards n'ayant plus d'anticorps parentaux, soit après la quatrième semaine. D'autre part, pour que l'effet de rappel soit optimal, il faut un délai de six semaines entre les deux vaccinations. Dans la pratique, la première intervention a lieu au cours d'une manipulation des jeunes reproducteurs entre la septième et la dixième semaine, pendant une pesée ou pendant l'opération de sélection, et la seconde à l'entrée en ponte. Il faudra alors se souvenir que les anticorps vitellins n'atteignent leur optimum que deux semaines après l'inoculation de rappel.



Si le programme des vaccinations indiqué ci-devant est respecté, les reproducteurs transmettront à leur descendance un haut degré d'immunité, pendant huit mois environ.

Normalement, celle-ci est suffisante pour protéger les canetons pendant leur période de sensibilité (4-5) mais dans certains cas, quand les conditions hygiéniques de l'élevage sont déplorables et le virus sauvage particulièrement pathogène, on observe quelques cas de mortalité entre trois semaines et demie et cinq semaines, qu'une seule vaccination des jeunes sujets à trois semaines permettra d'éviter.

Les canes effectuant plusieurs saisons de ponte, le problème des rappels de vaccination se pose. Les études de RISPENS (62) ont d'abord mis en évidence que la prise vaccinale se révélait insuffisante, si l'on se réfèrait au taux d'anticorps HVC obtenu, quand la vaccination avait lieu en période de grand froid ou de canicule, et pendant la mue des sujets.

Une seule injection de vaccin à condition qu'elle soit effectuée au moment de la reprise de la ponte, soit quelques jours après le retour aux " aliments-ponte " sera suffisante pour entraîner un taux d'anticorps égal à celui obtenu pendant la première ponte.

#### c) Immunisation des jeunes canetons

Cette technique peut être employée chez des canetons issus de parents non vaccinés. La souche E 52 peut alors être administrée par voie sous-cutanée ou par transfixion de la membrane palmaire aux canetons nouvellement éclos qui se révèlent résistants au



- virus HVC quatre jours après la vaccination ce qui revient à constater que, jusqu'à l'âge de quatre jours, ils risquent d'être contaminés par un virus pathogène.

Il existe en France actuellement un vaccin lyophilisé à virus vivant modifié \* issu de la souche E 52 cultivé sur oeufs embryonnés de poules SPF ( Specific Pathogen Free ). Pour que la prophylaxie de l'hépatite virale du caneton soit efficace, nous avons vu qu'il fallait respecter les trois conditions suivantes :

- absence d'anticorps parentaux à la première injection de vaccin,
- délai minimum de six semaines entre la première vaccination et l'injection de rappel,
- rappel obligatoire à l'entrée en ponte.

Un programme de vaccination peut donc s'instaurer comme suit :

- vaccination des reproducteurs : 1 ml par voie intra-musculaire ou sous-cutanée, représentant un minimum de  $10^{3,7}$  DIE 50.
  - 1ère injection : vers la 7ème semaine ( on profite d'une occasion où les canards doivent être manipulés : tri ou pesée ).
  - Rappel : au moins 6 semaines plus tard, obligatoirement à l'entrée en ponte.

\* Hépatovax (IFFA-Mérieux).



- vaccination des canetons : 0,5 ml par voie intra-musculaire ou sous-cutanée.

. Canetons issus de mères vaccinées : ils sont protégés contre l' HVC pendant la période de réceptivité. Cependant, en milieu très contaminé, on doit les vacciner à la troisième semaine.

. Canetons issus de mères non vaccinées (méthode de pis-aller) :

- 0,2 ml, le 1er jour,

- 0,5 ml, 3 semaines plus tard.

## CONCLUSIONS

L'hépatite virale du caneton, à l'origine de lourdes pertes, semble maintenant maîtrisée grâce aux méthodes modernes efficaces de prophylaxie. Cependant, il semble qu'on ne doive pas considérer le problème comme complètement résolu. En effet, TOTH (75) a signalé la découverte aux Etats-Unis d'un autre agent infectieux chez des sujets dotés d'une immunité parentale contre l' HVC. La maladie se développe deux à quatre jours après inoculation avec des symptômes cliniques voisins de ceux dus à l'infection par l' HVC classique sur le terrain, à savoir : une morbidité de 60 %, une mortalité de 20 % mais des lésions hépatiques atypiques et aucune relation antigénique avec l' HVC classique. TOTH a dénommé cet agent viral : HVC II.

Cet exemple, comme d'autres qui nous ont été communiqués oralement en 1976, prouvent qu'il convient de demeurer vigilant vis-à-vis du diagnostic hépatite virale du caneton et de ne pas classer d'ores et déjà cette affection dans les maladies du passé.



## II. La Peste du Canard

La peste ou entérite à virus du canard est sans doute la maladie virale du canard la plus anciennement décrite. En effet, dès 1923, BAUDET, selon JANSEN, publie en hollandais une note intitulée " une mortalité de canards aux Pays-Bas causée par un virus filtrable". Il pensa qu'il s'agissait de " peste aviaire " créant ainsi une confusion qui s'est perpétuée jusqu'en 1949, année du XIVe Congrès Mondial Vétérinaire à Londres. A cette occasion, JANSEN et KUNST ont démontré que le virus en question n'était ni celui de la peste aviaire, ni celui de la maladie de Newcastle et ont proposé la dénomination " peste du canard".

Depuis lors, la maladie a été identifiée en Amérique du Nord (54), en Asie (41-60) et en Europe ( 40-20-22-28) et si l'unanimité s'est faite sur l'individualité de cette affection, il n'en a pas été de même sur sa dénomination. Bien que le terme " peste du canard" et sa traduction anglaise " duck plague " aient été universellement employés, les autorités américaines ont décidé en 1967 d'utiliser la dénomination " entérite à virus du canard ", soit en anglais " duck virus enteritis".

### DEFINITION

La peste du canard est une maladie infectieuse, virulente, inoculable, spéciale aux anatidés, due à un ultravirus spécifique appartenant au groupe des Herpès virus. Elle affecte les anatidés de tous âges et le taux de mortalité peut atteindre 100 % provoquant essentiellement des lésions de type hémorragique sur les viscères des sujets atteints.



## ESPECES AFFECTEES

De très nombreuses espèces de palmipèdes citées par JANSSEN (37), VAN DORSSSEN (21), LEIBOWITZ et HWANG (53-54) sont susceptibles d'être affectées par le virus de la peste du canard. Parmi celles qui nous préoccupent plus particulièrement, le canard de Barbarie semble être de loin l'espèce la plus sensible, comme l'ont remarqué HALL (28) et SNYDER (73) dans des parcs zoologiques.

En fait quand le virus pénètre dans un élevage, ce sont toujours les canards de Barbarie qui meurent les premiers avec un taux de mortalité supérieur à celui de toutes les autres races de canards. Au laboratoire, l'injection de  $10^5$  DLCB 50\* aux canards de Pékin adultes n'entraîne que 10 % de mortalité. En revanche, la même souche après passages en série sur la même espèce a pu devenir aussi pathogène pour cette espèce que pour le canard de Barbarie.

TOTH (76) enfin a montré expérimentalement que des canards de tous âges peuvent être atteints et que le taux de mortalité reste à peu près le même des premiers jours à l'âge de dix sept mois et demi.

Bien que les cas de peste aient été rarement signalés chez l'oie, JANSSEN et WEMMENHOVE (44) ont pu prouver lors d'une épidémie survenue en Hollande, en 1965, que sa sensibilité à cette maladie était proche de celle du canard de Pékin.

## SYMPTOMES

La maladie se présente sous deux formes : aiguë et chronique.

\* DLCB 50 : dose létale 50 % pour le canard de Barbarie.



### 1. Forme aiguë

Le canard devient triste et se déplace difficilement. Les ailes sont pendantes. Les canards malades répugnent à nager et préfèrent se confiner dans l'obscurité. Leur plumage devient terne et ébouriffé. Entretemps, apparaît un larmolement qui engendre un sillon humide sous l'oeil ; plus tard la sécrétion oculaire devient plus visqueuse et chez les canards mourants, les paupières gonflées peuvent être collées. Le jetage nasal augmente et, dans les derniers stades de la maladie, les narines sont souillées. Le cri est enroué. La soif est intense avec anorexie. On note une diarrhée profuse et les animaux restent couchés ; le cloaque présente souvent des débris nécrotiques jaunâtres. La maladie peut évoluer en deux à trois jours avec, dans ce cas, un tableau clinique incomplet. Dans les formes moins sévères, on peut observer quelquefois une rémission apparente un jour avant la mort. Quoique la maladie d'un seul canard soit de courte durée, la maladie dans une grande population de canards peut s'étaler sur plusieurs semaines.

### 2. Forme chronique

La forme chronique de la peste du canard, mise en évidence par GAUDRY (25) est nettement moins caractéristique et apparaît chez les reproducteurs au moment du démarrage de l'activité sexuelle. Quand il y a des morts, ce qui n'est pas toujours le cas, on observe un étalement de la mortalité pendant plusieurs semaines. Le fait le plus marquant est cependant une courbe de ponte anormalement basse chez les canes. Les canards de Barbarie semblent les animaux les plus sensibles à cette forme de la maladie qui, parce qu'elle nécessite un examen de laboratoire pour être révélée, est rarement diagnostiquée et doit exister en fait plus souvent que l'on croit.



## LESIONS

Les lésions de la forme aiguë souvent foudroyante, décrites par JANSEN (37) sont caractéristiques de l'affection et fonction de l'âge des animaux et permettent de faire le diagnostic sur le terrain.

1. sur tous les canards quel que soit l'âge

Carcasse fortement congestionnée, hémorragies de différentes tailles sur la majorité des organes, le foie et le coeur étant les plus fréquemment atteints.

2. chez les jeunes sujets de moins de quatre semaines

A l'ouverture de la cavité abdominale: présence d'hémorragies annulaires de 3 à 10 mm de largeur dans la majorité des cas, et nettement visibles sur l'intestin grêle qui, après coupe longitudinale (opération à ne pas omettre de faire) paraissent avec un contour très bien délimité, en relief sur la muqueuse interne, et suivant le stade de développement recouvertes d'un tissu nécrotique de 1 à 3 mm d'épaisseur.

3. chez les adultes

Sur le tiers supérieur de l'œsophage et du gros intestin qu'il importe d'examiner attentivement, au premier stade de la maladie, hémorragies "en coup d'ongle" disposées dans le sens longitudinal du tube digestif, puis plus tard, recouvertes d'un tissu nécrotique qui, dans les cas extrêmes, s'étend sur toute la muqueuse interne.



Chez l'oie, les lésions sont similaires.

Dans la forme chronique, aucune lésion spécifique ne peut être distinguée.

### PATHOGENIE - EPIDEMIOLOGIE

Des canards placés au contact du virus dans les conditions naturelles font la maladie après un temps d'incubation difficile à déterminer. On doit à JANSEN (37) d'avoir montré qu'après infection par voie sous-cutanée de canards adultes, les symptômes se déclenchent suivant la souche d'inoculation utilisée après un délai allant de trois à neuf jours, temps qui semble être du même ordre sur le terrain.

En fait, le contact joue un rôle primordial dans l'épidémiologie de la peste du canard. La preuve en est donnée par l'expérience suivante : sur deux lots de canards séparés l'un de l'autre par un simple couloir grillagé de deux mètres de large, l'un fut inoculé avec le virus de la peste du canard, et l'autre non. Les canards du premier lot sont tous morts, alors que ceux du deuxième lot sont restés en parfaite santé. La maladie n'est donc pas très contagieuse.

La contamination se fait le plus souvent par l'introduction dans un élevage sain de sujets malades ou porteurs de virus. Elle peut également avoir lieu par l'intermédiaire de gibier d'eau selon les observations de LEIBOWITZ et HWANG (53-54).

### DIAGNOSTICS CLINIQUE et NECROPSIQUE

Dans la forme aiguë, une mortalité commençant par les canards de Barbarie associée à la présence d'un syndrome hémorragique au niveau des différents viscères renforcera la présomption qui



deviendra quasi-certitude quand on trouvera des anneaux hémorragiques sur la muqueuse intestinale. et, chez les adultes, une œsophagite et une cloacite diphtéroïdes accompagnées de nécrose des muqueuses internes.

La peste du canard, dans sa forme aiguë, est la seule maladie virale des palmipèdes que l'on peut diagnostiquer sur le terrain avec le minimum de risques d'erreur. Il importe néanmoins de la différencier des formes septicémiques d'étiologie bactérienne. Quant au diagnostic de la forme chronique, il est beaucoup plus délicat et là, encore, se fait sentir la nécessité d'un diagnostic de laboratoire facilement accessible.

#### CARACTERES du VIRUS

L'agent infectieux de la peste du canard est un Herpès virus cultivable sur oeuf embryonné, sur cellules d'embryons cultivées en couches monocellulaires. Sur oeuf embryonné, la voie d'inoculation de choix est la voie chorio-allantoïdienne avec des oeufs entre le douzième et le quatorzième jour d'incubation. Les embryons de cane sont les plus sensibles mais il est possible d'adapter ce virus aux embryons de poule.

Un effet cytopathogène apparaît entre le deuxième et le sixième jour qui suit l'inoculation du virus sur cultures de fibroblastes d'embryons de canes de Barbarie.

Les propriétés physico-chimiques de ce virus ont été étudiées par KUNST (51). Il s'agit d'un virus à ADN (16) rapidement détruit par la chaleur (une demi-heure à 56° C, 2 heures à 50° C, 30 jours à 22° C) sensible au traitement par l'acide, l'éther ou le chloroforme, stable à un pH compris entre 5 et 9, détruit instantanément par des pH de 3 ou de 11 (38) ; c'est donc un agent relativement résistant. Sa taille déterminée au microscope électronique est de 130 mμ de diamètre.



## PROPHYLAXIE MEDICALE

Cette prophylaxie est assurée par un vaccin vivant modifié qui mérite une attention particulière.

### a) Souche vaccinale

En 1961, JANSEN et son équipe, après avoir effectué douze passages sur oeufs embryonnés de cane suivis de vingt passages sur oeufs embryonnés de poule obtiennent un virus ayant perdu son pouvoir pathogène tout en conservant un fort pouvoir immunigène.

JANSEN a utilisé ce trente deuxième passage pour préparer le vaccin vivant diffusé en Hollande. Et c'est ce même passage qu'il a fait parvenir à DARDIRI, lequel a cloné le virus vaccinal au cours de trois passages en série sur fibroblastes d'embryons de canards.

La souche clonée de DARDIRI a été ensuite passée trois fois sur fibroblastes d'embryons de poulets SPF ; c'est ce dernier passage qui entre dans la composition du vaccin vivant utilisé actuellement en France<sup>\*</sup>.

Il n'y a pas de danger de retour à la virulence ; en effet, d'une part, les canards n'excrètent pratiquement pas ce virus-vaccin (37-78) ; d'autre part, JANSEN et KUNST (43) ont constaté qu'il est impossible de redonner la virulence à une souche de virus peste du canard adaptée à l'oeuf de poule, même après dix passages sur canetons, se succédant à de très brefs intervalles.

\* Vaxiduk, IFFA-Mérieux.



b) Vaccination

Les voies d'inoculation sont indifféremment la voie intra-musculaire ou la voie sous-cutanée. La vaccination par addition du vaccin à l'eau de boisson, bien que possible (42), n'a pas été retenue du fait de la tendance des canards à gaspiller l'eau mise à leur disposition, d'où une impossibilité de contrôler la dose vaccinale absorbée.

De tous les virus que nous mentionnons ici, c'est celui de la peste du canard qui diffuse le moins. C'est une maladie qui, si l'on en croit la littérature, reste localisée et, comme sa forme aiguë est de diagnostic aisé, les éleveurs ne vaccinent tous les sujets de l'élevage que s'il y a un risque précis de contamination.

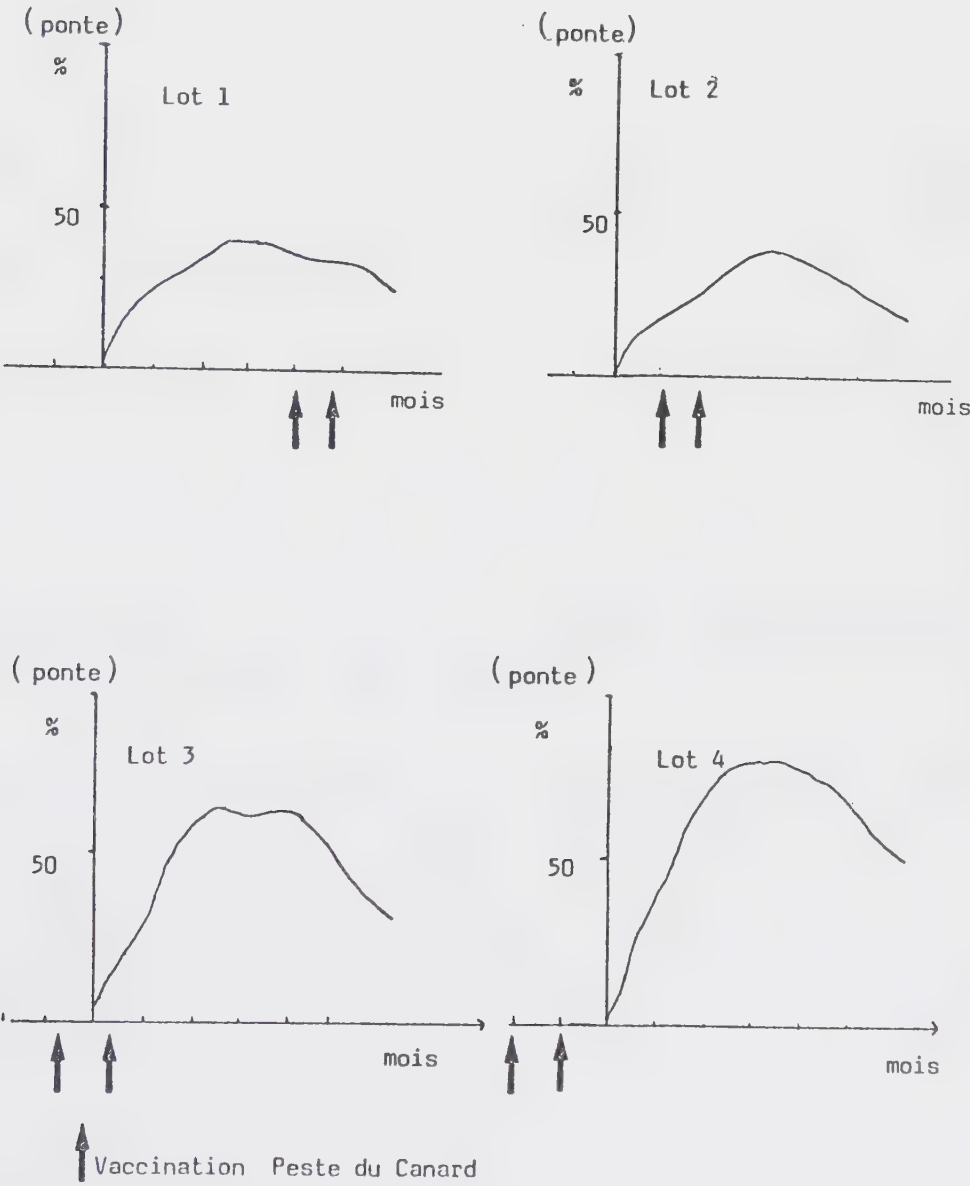
Toutefois, depuis les travaux de GAUDRY (25) révélant l'existence d'une forme chronique fort difficile à mettre en évidence, certains accoueurs ont vacciné avant l'entrée en ponte les canards de Barbarie reproducteurs et souvent les performances en matière de ponte se sont améliorées sans que l'on sache, dans certains cas, s'il s'agit d'une action spécifique ou non du vaccin.

Nous présenterons ci-après le résultat d'un cas particulièrement typique de vaccination d'un élevage de reproducteurs atteints d'une forme chronique de peste du canard.

Les vaccinations ont été effectuées sur quatre parquets de reproducteurs à différents stades de la ponte. L'analyse des courbes de la figure 1 montre clairement que la vaccination n'atteint son niveau optimum d'efficacité que si les sujets reçoivent deux injections de suspension vaccinale avant l'entrée en ponte.



Figure n° 1 - INFLUENCE de la VACCINATION  
PESTE du CANARD sur la COURBE de  
PONTE dans un ELEVAGE CONTAMINE.





En ce qui concerne l'apparition de l'immunité, selon JANSSEN (38), les sujets sont protégés dès la vaccination, et selon TOTH (77) à partir du quatrième jour; mais tous deux s'accordent pour admettre l'intervention d'un phénomène d'interférence, dont le mécanisme nous échappe, qui justifierait la rapidité avec laquelle la protection s'installe.

Quant à la durée d'immunité, douze à quatorze mois sont les chiffres communiqués par JANSSEN (39) après contrôle d'activité par épreuve virulente, alors que TOTH (78), cherchant la présence d'anticorps de canards vaccinés, pense qu'elle ne peut pas dépasser cinq mois.

Quoi qu'il en soit, sur le terrain, cette durée d'immunité est estimée par les éleveurs à trois mois pour les canards de Barbarie et à cinq pour les autres.

Tenant compte des considérations précédentes, le programme de vaccination préconisé en France est le suivant :

- en milieu sain, primovaccination des futurs reproducteurs au moment du tri en vue de la sélection ( vers la 7ème semaine).
- 2ème injection, 4 semaines plus tard,
- puis rappels tous les 4 mois environ avec obligatoirement un rappel au moment de l'entrée en ponte.



- en milieu très contaminé et en période d'épidémie, vaccination de tout l'élevage à partir de la 3ème semaine,
- 2 injections à 3 semaines d'intervalle, par voie sous cutanée ou intramusculaire,

. sur canetons de 2 à 4 semaines : 0,5 ml      ( $10^{2,7}$  DIE 50)

. sur canetons de plus d'un mois : 1 ml      ( $10^3$  DIE 50).

### CONCLUSIONS

Bien que la peste ou entérite à virus du canard semble être la maladie virale des palmipèdes la plus anciennement connue, tout n'a pas été résolu à son égard en matière de prophylaxie.

Il reste encore :

- à préciser notamment la durée d'immunité conférée par le vaccin.
- à vérifier l'interférence du virus vaccinal avec d'autres agents infectieux,
- à mettre au point une technique de diagnostic rapide de façon à pouvoir mieux juger de l'importance économique de la forme chronique.



### III. La Maladie de Derzsy

La maladie de Derzsy, après avoir connu plusieurs dénominations telles que " peste de l' oie " en Hollande, " hépatite de l'oie " en Allemagne, " influenza de l' oie " ou " maladie à réovirus de l'oie " en Hongrie, "hépato-néphrite-ascite de l'oie " en France, a été ainsi désignée pour rendre hommage au Professeur Derzsy décédé en 1973.

D'existence ancienne, en Europe Centrale et en France, son origine virale a été démontrée il y a à peine cinq ans. Elle fut d'abord étudiée de façon isolée en Hongrie (11-12-18), Allemagne (49-65), Hollande (6-32), Russie (48), Italie (57), France (8-23-24). Il ne fut possible d'en avoir une connaissance plus précise qu'à partir de 1971 lorsque, sous l'impulsion de MONACHON, fut créée une commission de virologistes spécialistes de l'oie sous l'égide de la World Poultry Science Association et la présidence du Professeur DERZSY.

#### DEFINITION

La maladie de Derzsy est une maladie infectieuse virulente, inoculable, très contagieuse, spéciale aux oies et canards de Barbarie, due à un ultravirus spécifique appartenant au groupe des Parvovirus.

Elle frappe les jeunes oisons et canetons de Barbarie avec un taux de morbidité et de mortalité pouvant atteindre 100 %.



## ESPECES AFFECTEES

Les essais de transmission à d'autres races de canards et aux volailles sont restés sans succès.

Seuls les oisons et les canetons de Barbarie semblent sensibles à l'affection pendant les six premières semaines de leur vie. D'après SCHETTLER (66) le taux de mortalité décroît de 100 % à 0 % de la naissance au 34ème jour mais cette résistance due à l'âge peut être vaincue en injectant de fortes doses de virus par voie intraveineuse : les symptômes sont alors les mêmes que chez les jeunes.

## SYMPTOMES

La description des symptômes réalisée depuis longtemps est très précise et est sans doute le point sur lequel les chercheurs se sont accordés avec le moins de difficulté. La première est due à KRAUSS (50), la plus détaillée à DERZSY (18) et en France à COUDERT et Coll. (8-10).

Les deux espèces atteintes (oies et canards de Barbarie) doivent être étudiées séparément, car leur physiologie et leur type d'élevage sont différents, les élevages industriels étant beaucoup plus nombreux chez le canard de Barbarie que chez l'oie.

Ces deux raisons peuvent expliquer la différence de manifestations cliniques de la maladie de Derzsy chez le caneton et chez l'oison, non seulement au niveau individuel mais surtout au niveau du groupe.

Trois formes cliniques peuvent être distinguées : la forme aiguë, la forme subaiguë et la forme tardive.



## 1° - Chez l'oison

- la forme aiguë, d'évolution rapide, atteint les jeunes oisons de six à dix jours. Les sujets atteints se déplacent avec difficulté et présentent un manque de vitalité. Ils restent couchés sur le côté, très amaigris avec une diarrhée aqueuse de couleur blanchâtre. 60 à 100 % de l'effectif succombent entre un à cinq jours après le début des symptômes.

Cette forme doit être distinguée d'une autre forme aujourd'hui considérée comme disparue en France et qui atteignait les jeunes issus de reproducteurs indemnes d'anticorps parvovirus. Le virus alors transmis par voie verticale, se multipliait dans l'embryon pendant l'incubation provoquant à la fin de celle-ci une forte mortalité en coquille ou entraînant la mort des oisons nouvellement éclos, incapables de résister au delà de cinq jours à cette contamination. Les pertes survenues par cette voie de transmission ont toujours été plus importantes chez l'oie que chez le canard de Barbarie.

- la forme subaiguë évolue plus lentement. La phase de début est très difficile à déceler. Mais à partir de 15-21 jours, les sujets malades grossissent moins vite que les autres. On observe au niveau de l'abdomen, du dos et du bord antérieur des ailes, des pertes anormales de duvet qui change de couleur en totalité et devient jaune-brunâtre. Mais le phénomène le plus inquiétant est une croissance inférieure de 50 à 80 % à la croissance normale.

Ces symptômes évoluent pendant une semaine environ puis la maladie se termine dans 70-80 % des cas par une guérison spontanée ; l'animal comble lentement son retard de croissance mais reste fragile et sujet à de nombreux accidents, surtout au moment du gavage.



Pour les autres cas, l'oiseau continue de maigrir, présente des difficultés locomotrices et meurt dans un état d'extrême cachexie, l'abdomen distendu par un abondant liquide d'ascite.

- la forme tardive apparaît vers l'âge de huit-dix semaines et se manifeste par une mortalité s'étalant de l'âge de dix semaines jusqu'au gavage, avec une mort très rapide en crise d'urémie. L'évolution des symptômes n'est que de quelques heures. Cette variation dans le tableau clinique serait consécutive à l'emploi de sérum hyperimmun (10). Toutefois, il semble, comme nous le verrons à propos de la " néphrite et entérite hémorragique de l'oise " (NEHO) que l'étiologie de cette forme est sujette à discussion.

## 2° - Chez le caneton de Barbarie

- la forme aiguë, d'évolution rapide, comme chez l'oison, atteint les jeunes canetons de huit à quinze jours, qui sont abattus, se déplacent difficilement, ont une diarrhée aqueuse et meurent rapidement en décubitus latéral.
- la forme subaiguë frappe les canetons de Barbarie âgés de deux à cinq semaines et plus fréquemment vers trois semaines et constitue ce que les éleveurs appelaient la " maladie des trois semaines du caneton de Barbarie ".

Les premiers signes sont, pendant deux à trois jours, une dyspepsie et une dysorexie : certains sujets boivent beaucoup alors qu'ils s'alimentent de moins en moins. Les sujets maigrissent progressivement, sont abattus, tristes, se tiennent à l'écart du troupeau et meurent.



Le fait le plus frappant est l'aspect hétérogène du troupeau qui débute vers les trois semaines pour aller en s'accroissant jusqu'à l'abattage. De très beaux sujets pouvant atteindre à ce moment 3,200 kg pour les mâles, 1,900 kg pour les femelles, avec un plumage remarquable, côtoient ce que les éleveurs appellent des "pingouins" c'est-à-dire des oiseaux pesant 1 kg en moyenne et présentant un corps maigre et déplumé, prolongé par des pattes et un cou normalement développés.

Cette hétérogénéité peut provenir d'un degré d'immunisation différent à l'éclosion où certains sujets ont un taux d'anticorps anti-maladie de Derzsy très élevé et d'autres très faible avec tous les stades intermédiaires.

- dans la forme tardive, les premiers troubles apparaissent vers la septième semaine ; on observe alors une baisse de la consommation d'aliments, une perte de plumes sur 20 à 30 % des sujets, une entérite, et un arrêt total de la croissance, avec même, parfois, une régression spectaculaire du poids sur 10 à 15 % des sujets. La mortalité est généralement faible (2 à 5 %) mais peut atteindre 10 à 12 % du troupeau dans les cas extrêmes.

A toutes ces manifestations cliniques correspondent, aussi bien chez l'oison que chez le caneton de Barbarie, des formes lésionnelles que nous allons exposer.

## LESIONS

Nous décrirons les lésions correspondant à chacune des formes cliniques observées :



## 1° - Chez l'oison

- dans la forme aiguë, l'aspect le plus frappant est l'état cachectique très prononcé de la carcasse des oisons, mais les lésions proprement dites sont inconstantes : des plaques de décoloration sur le foie et le myocarde, des reins congestionnés.
- la forme subaiguë, outre un état de maigreur anormale des carcasses, présente un tableau lésionnel constant qui intéresse tous les organes de l'oison : le coeur, le foie et les reins sont hypertrophiés et décolorés; le coeur selon le stade de la maladie est congestionné et est entouré d'un abondant exsudat péricardique et ses oreillettes sont très dilatées. L'ensemble des organes abdominaux est recouvert d'un épais dépôt de fibrine et baigne dans un liquide d'ascite de couleur claire.
- quant à la forme tardive, nous parlerons de ses lésions à propos de la " néphrite et entérite hémorragique de l'oie" ( NEHO ).

## 2° - Chez le caneton de Barbarie

- dans la forme aiguë, l'autopsie des canetons de Barbarie, comme celle des oisons, ne révèle pas de lésions caractéristiques en dehors d'un état de maigreur plus ou moins avancé.
- dans la forme subaiguë, les lésions dominantes relevées sur les sujets dont la croissance a été bloquée se situent au niveau du coeur (péricardite fibrineuse) et de la rate (hypertrophie considérable pendant la période de virémie). Par la suite, la péricardite devient de type fibrineux et, à ce stade, il n'est pas rare de mettre en évidence des points de nécrose sur la rate qui tend à reprendre une taille normale.



On observe de façon moins régulière des lésions de périhépatite, d'ascite et d'aérosacculite qui peuvent de plus être dues à des germes de complication.

- la forme tardive se traduit elle aussi par un état cachectique des carcasses ; la rate n'est plus réactionnelle et présente des petits points de nécrose, l'autopsie révèle le plus souvent des lésions de péricardite. Un dépôt fibrineux, gélatineux, peut recouvrir le mésentère et le foie.

### PATHOGENIE-EPIDEMIOLOGIE

La maladie de Derzsy est sans doute de toutes les affections des anatidés étudiées jusqu'à présent, la maladie virale la plus contagieuse. Son passage est révélé par la présence d'anticorps parvovirus dans la quasi totalité des élevages contrôlés. Elle existe partout actuellement en Europe et sa diffusion est favorisée par les échanges commerciaux.

C'est très probablement par voie digestive et respiratoire que le virus de la maladie de Derzsy s'introduit dans l'organisme des oisons et des canetons de Barbarie sains mis en contact avec des animaux porteurs de virus ou malades. L'incubation de la maladie dure alors quatre à cinq jours et l'excrétion se fait par les fécès.

SCHETTLER (67) a démontré qu'en plus de cette transmission par contact pouvait exister une transmission transovarienne. En effet, il a retrouvé le virus dans des cultures de fibroblastes d'embryons d'oie avant inoculation confirmant ainsi l'hypothèse de la transmission verticale de l'agent infectieux, qu'on avait déjà soupçonné en observant un taux d'éclosion anormalement bas dans des élevages de reproducteurs contaminés.



## DIAGNOSTIC CLINIQUE

Les nombreux aspects que peut présenter la maladie expliquent le fait que le diagnostic sur le terrain soit pratiquement impossible.

Le praticien doit, pour tenter de poser un diagnostic clinique, attacher une grande importance aux commémoratifs, savoir si les parents des oiseaux malades étaient vaccinés ou non, et considérer l'âge des sujets affectés : si ces derniers ont plus de dix semaines, la maladie de Derzsy ne doit pas être suspectée, alors que si, à cinq-sept semaines, des sujets sérumisés perdent leurs plumes, meurent de façon anormale dans un troupeau à aspect hétérogène, l'action du virus de la maladie de Derzsy peut être mise en cause, tout du moins chez le canard de Barbarie.

Les lésions observées ont également leur importance ; ainsi, des lésions de périhépatite, splénomégalie et aérosacculite sur des canetons de trois à neuf semaines peuvent orienter le diagnostic. Cependant, il faudra constamment faire la différence avec les maladies à réovirus, les pasteurelloses ou toutes interventions d'autres germes pathogènes, et seul le diagnostic expérimental peut trancher.

## CARACTERES du VIRUS

Bien que l'origine virale de la maladie de Derzsy ait été très tôt soupçonnée, les chercheurs ont eu du mal à en identifier le véritable agent responsable. En effet, pour y parvenir, tous les chercheurs qui au début ont isolé des souches "H", "B", en Hongrie, "HK" en Hollande et d'autres encore en Allemagne, en Italie, en Russie, ont travaillé au laboratoire sur des oeufs d'oie qui contenaient, sans qu'ils en aient la preuve, des anticorps parvovirus. La contagiosité extrême



de ce virus empêchait de trouver, avant les méthodes actuelles d'isolement, des oeufs indemnes d'anticorps. Ceci fut à l'origine de nombreuses confusions.

Grâce à la création de l'organisme de coordination évoqué précédemment, ces inconvénients furent surmontés. L'identité sérologique des différentes souches isolées chez l'oie et le canard de Barbarie fut établie par DANNACHER et Coll. (15), KISARY (46) et GAUDRY (24).

On admet maintenant que la maladie de Derzsy est due à un parvovirus appartenant au même sérotype dont les possibilités de multiplications et les caractères physico-chimiques ont fait l'objet de plusieurs études.

#### - Multiplication du virus

Elle peut se réaliser soit par inoculation à l'oeuf embryonné d'oie ou de canard de Barbarie, soit par inoculation aux cultures de fibroblastes d'embryons d'oie ou de canard de Barbarie.

#### - inoculation à l'oeuf embryonné d'oie ou de canard de Barbarie

Cette inoculation se fait sur la membrane chorioallantoïdienne de l'oeuf ou si le virus est déjà adapté à l'oeuf, directement par voie intra-allantoïdienne, laquelle permet d'obtenir des titres infectieux de l'ordre de  $10^7$  DLE 50.

Le problème majeur consiste à disposer d'oeufs dont le vitellus ne contienne pas d'anticorps.



- inoculation aux cultures de fibroblastes d'embryons d'oie ou de canards de Barbarie.

Cette méthode est préférable à la précédente quand on ne peut pas disposer d'oeufs sans anticorps et diminue donc les risques d'erreurs dans l'interprétation des résultats.

En effet, si les fibroblastes proviennent de jeunes embryons, le taux d'anticorps est faible et le virus peut se multiplier. Ce virus est très sensible à l'âge des cellules et à la densité de la couche cellulaire. Sous réserve d'être dans de bonnes conditions, le virus produit un effet cytopathogène qui se traduit par l'apparition de larges zones d'aspect granuleux aboutissant le plus souvent à la destruction du tapis cellulaire.

#### - Caractères physico-chimiques

Des études ont été effectuées par SCHETTLER (65) puis par KISARY et DERZSY (47) enfin par DANNACHER et Coll. (15) qui, en travaillant sur des souches différentes leur ont trouvé les mêmes caractères physico-chimiques.

La suspension antigénique passée à travers un filtre Millipore de 0,3  $\mu$  de porosité conserve le même titre infectieux, ce qui tend à prouver que l'agent causal de la maladie de Derzsy est bien un virus. Par ailleurs et plus tard, GAUDRY et TEKTOFF (24), puis KISARY et DERZSY (47) ont photographié la particule virale au microscope électronique et lui ont attribué un diamètre de 20 à 22 nm.

Ayant son développement inhibé par la 5 iodo 2' désoxyuridine, ce virus possède donc un acide nucléique à ADN ; il est résistant au traitement à l'éther, au chloroforme, au désoxycholate de sodium à 0,25 %. Sa virulence n'est pas affectée par un chauffage à + 56° C pendant trois



heures, par une acidité à pH 3, par le formol à 1 °/oo ni par d'autres agents chimiques d'inactivation.

Toutes ces propriétés permettent de le classer dans le groupe des parvovirus.

## PROPHYLAXIE MEDICALE

Elle fait appel, là encore, à l'immunisation passive et à l'immunisation active.

### - immunisation passive

Tout traitement s'avérant illusoire et malgré l'application d'une prophylaxie sanitaire rigoureuse par les éleveurs, la maladie s'est étendue à toute l'Europe. C'est pourquoi, de nombreux vétérinaires du Sud-Ouest de la France soupçonnant l'origine virale de l'affection se sont mis à préparer des sérums à partir de sang récolté au moment de l'abattage de bandes contaminées. Le sérum obtenu était inoculé à des oisons de deux jours à la dose de 2 ml par voie sous-cutanée. Cette méthode, quoique artisanale, se révéla très efficace : alors que 40 à 70 % des oisons appartenant à des bandes non traitées succombaient à la maladie, la mortalité ne dépassa guère 2 % dans les bandes séruminisées.

Déjà, à cette époque, les instituts hongrois préparaient de leur côté un sérum à partir du sang prélevé au moment de l'abattage des oies hyperimmunisées par inoculation d'une suspension virulente à l'âge de 5-6 semaines, et ce sérum fut également utilisé en France sur des parquets d'oies avec des résultats favorables dans l'ensemble.

D'un autre côté, en France, un sérum hyperimmun monospécifique\*

\* Sérumoi, IFFA-Mérieux



produit selon une technique différente a été diffusé sur le terrain. On hyperimmunise des oies adultes avec un antigène parvovirus préparé sur culture de tissu, dont la pureté a été, entre autre, contrôlée au microscope électronique.

110 ml de sang sont prélevés une fois par semaine à la veine jugulaire. Après coagulation, ce sang subit une centrifugation et une décantation. Le plasma ainsi exsudé est additionné de merthiolate à raison de une partie pour 10 000 puis filtré sur des membranes de porosité 0,3  $\mu$ . Chaque lot est contrôlé du point de vue bactériologique, innocuité et activité. L' injection de ce sérum se fait ensuite par voie sous-cutanée sur les oisons de un à deux jours à raison de 2 ml par animal.

En pratique, les résultats comparatifs de ces trois sérums ont été le sujet de nombreuses discussions. En toute objectivité, on peut reconnaître que les méthodes de préparation et de contrôle d'innocuité du dernier sérum décrit sont supérieures à celles des deux autres.

Par contre, les deux premiers préparés à partir de broyats d'organes ou de sang provenant d'animaux malades chez qui plusieurs germes pathogènes peuvent être associés présenteraient l'avantage d'avoir des anticorps contre l'ensemble de ces germes. Leur polyvalence leur confèrerait ainsi une activité supérieure dans le cas où le parvovirus ne serait pas seul en cause sur le terrain.

Malheureusement, des expériences menées parallèlement ont montré, comme toujours lors d'une immunisation passive, que l'effet favorable du sérum s'atténue après au maximum quatre semaines d'élevage. De plus, les injections de rappel si elles semblent intéressantes chez l'oie, sont chez le canard de Barbarie d'une totale inefficacité, en raison des anticorps anti-oie fabriqués par l'organisme des canetons.



En dépit donc des bons résultats obtenus par l'emploi systématique du sérum qui a permis d'enrayer les pertes dues aux formes aiguë et subaiguë de la maladie, la mise au point d'un vaccin était fort attendue, en particulier par les éleveurs de canards de Barbarie chez lesquels sévissait la forme tardive de la maladie de Derzsy.

#### - Immunisation active

L'immunisation active en matière de maladie de Derzsy s'adresse à deux types de vaccin : l'un vivant et l'autre inactivé.

Le premier type est utilisé en Hollande chez tous les sujets. En France, il est destiné uniquement aux jeunes qui doivent être abattus vers dix-treize semaines et que nous appellerons " sujets chair ", les reproducteurs étant immunisés à l'aide d'un vaccin tué. Nous traiterons seulement du vaccin vivant.

#### 1° - Souche vaccinale

Si diverses souches de parvovirus ont été employées pour la préparation de vaccins tués, une seule souche, la souche H de HOEKSTRA, semble avoir été utilisée dans les vaccins vivants diffusés notamment en Hollande et en France.

L'auteur a d'abord effectué 30 passages en série sur oeufs embryonnés de canes de Barbarie (H30) suivis de 25 autres sur cellules d'embryons de canards de Barbarie (H55).

Dans le but d'en contrôler le degré d'atténuation, chacun des passages H8, H30, H37, et H55 a été inoculé à 30 oisons sensibles de un jour gardés en observation pendant 14 jours puis abattus pour en faire l'examen nécropsique (34). Les résultats présentés de façon



schématique dans la figure n° 2 mettent en évidence l'atténuation progressive de la souche H au fur et à mesure des passages. Le dernier (H55) ne provoque plus de troubles pathologiques chez les oisons.

Un laboratoire français a ensuite passé la même souche huit fois sur fibroblastes d'embryons de canards de Pékin puis six fois sur fibroblastes d'embryons de canards de Barbarie, donnant H 69 qui s'est révélée totalement inoffensive pour le caneton de Barbarie et l'oison de un jour. Les sujets inoculés à l'âge de 1, 15, 21 et 28 jours ne semblent pas excréter de virus, les témoins de contact observés jusqu'à l'âge de dix semaines restant indemnes d'anticorps parvovirus. Par ailleurs, plusieurs contrôles de laboratoire ont montré que H 69 gardait un pouvoir immunigène satisfaisant. Toutes ces propriétés ont permis aux chercheurs de recommander cette souche pour la préparation d'un vaccin vivant\* diffusé en France depuis quelques mois.

## 2° - Vaccination

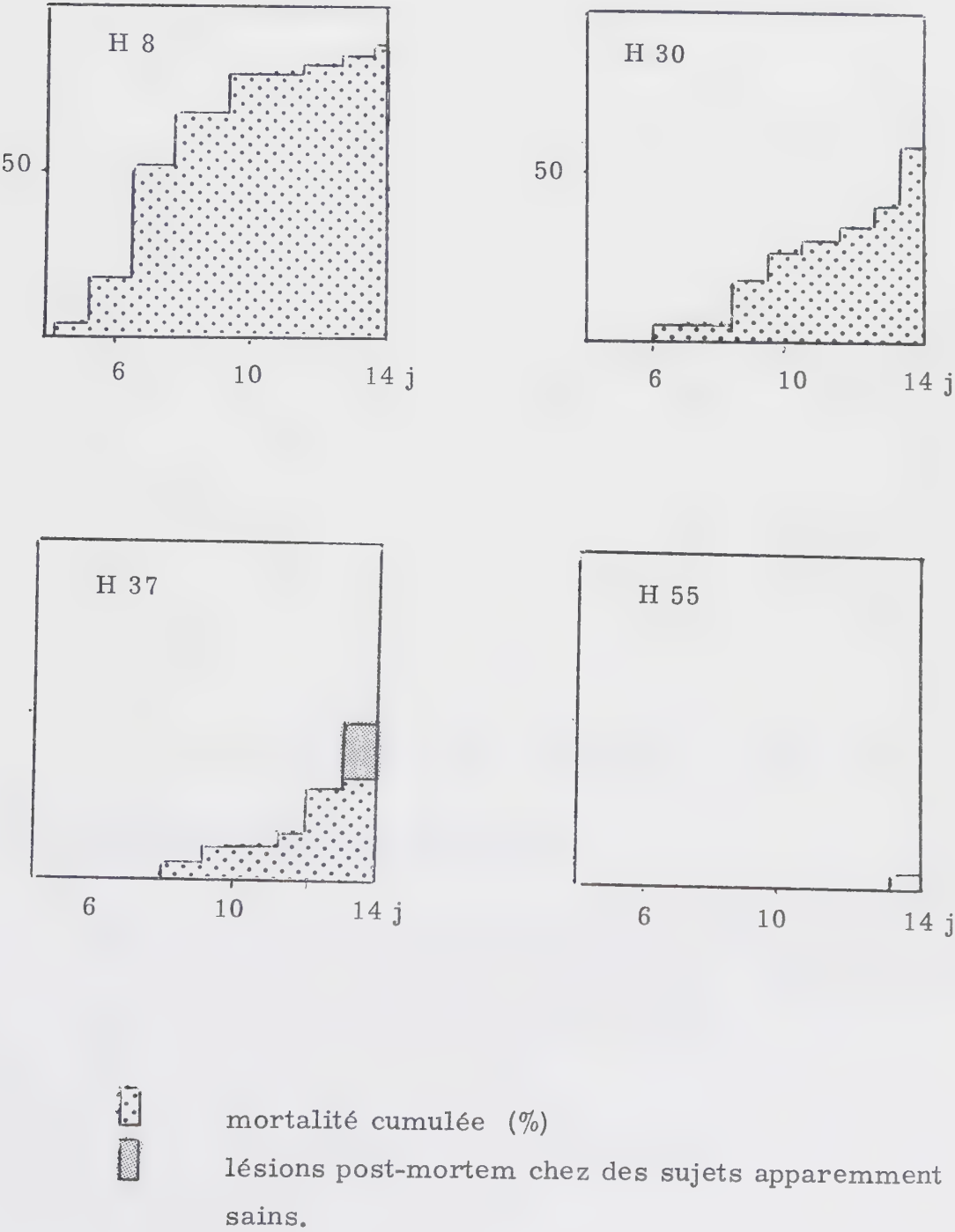
Des sondages sur le terrain ayant révélé que, malgré la grande diffusion de la maladie de Derzsy, les taux en anticorps parvovirus variaient considérablement chez les adultes, il a paru nécessaire, dans une première étape, de vacciner les reproducteurs dans le but d'obtenir des canetons ayant tous un taux élevé d'anticorps parvovirus.

Dans une seconde étape, pour éviter la forme tardive, on a pensé que la vaccination des jeunes sujets en fin d'immunité parentale était inévitable. Le bien-fondé de ce raisonnement a été vérifié par une série d'expériences de laboratoire que nous résumerons ci-après :

\* Palmivax, IFFA-Mérieux



Figure n° 2 : Mortalité cumulée d'oisons réceptifs de 1 jour après infection avec différents passages du virus de la maladie de Derzsy, souche Hoekstra.





a) Protection conférée aux jeunes sujets issus de parents vaccinés.

Ce point particulier a été étudié par HOEKSTRA (33) sur des canetons de Barbarie et sur des oisons issus de parents immunisés (lots A) qui ont reçu, ainsi que des sujets témoins indemnes d'anticorps parvovirus (lots B), une forte dose de virus pathogène de la maladie de Derzsy.

Les résultats présentés dans le tableau ci-après mettent en évidence la qualité de l'immunité parentale chez les sujets issus de parents vaccinés.

| Espèce                     | Lot | Nbre sujets<br>éprouvés | Nbre de<br>morts | Nbre de<br>malades |
|----------------------------|-----|-------------------------|------------------|--------------------|
| Oisons                     | A   | 35                      | 0                | 0                  |
|                            | B   | 72                      | 52               | 9                  |
| Canetons<br>de<br>Barbarie | A   | 11                      | 0                | 0                  |
|                            | B   | 24                      | 21               | 0                  |

b) Durée de l'immunité parentale

Elle a été mesurée par séroneutralisation dans le temps : On a ainsi constaté que l'indice de neutralisation reste très élevé pendant les deux premières semaines de la vie.



c) Moment optimal de la vaccination

Des essais de vaccination entre la deuxième et la quatrième semaine de la vie des canetons issus de parents vaccinés et provenant du même lot ont donc été effectués pour déterminer l'âge optimal auquel ces canetons doivent être vaccinés afin que le relais de la vaccination soit efficace :

- le lot A a été vacciné à 2 semaines
- le lot B a été vacciné à 3 semaines
- le lot C a été vacciné à 4 semaines

Les anticorps parvovirus des 15 canards de chaque lot ont été mesurés chaque semaine.

Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant :

| Âge des canetons en semaines               | 3   | 4   | 5          | 6   | 7          | 8          | 9   | 10  | 11  | 12  |
|--------------------------------------------|-----|-----|------------|-----|------------|------------|-----|-----|-----|-----|
| Lot A<br>IN moyen                          | 2,1 | 1,8 | 2,0        | 2,1 | 1,7        | 1,8        | 1,9 | 1,3 | 1,0 | 0,9 |
| Lot A<br>Nbre de canetons dont IN $\geq$ 2 | 9   | 6   | 6          | 6   | 5          | 3          | 5   | 4   | 4   | 3   |
| Lot B<br>IN moyen                          | -   | 1,6 | 2,2        | 2,2 | 1,8        | 2,0        | 1,7 | 1,2 | 0,9 | 1,0 |
| Lot B<br>Nbre de canetons dont IN $\geq$ 2 | -   | 5   | 9          | 8   | 6          | 7          | 6   | 5   | 1   | 3   |
| Lot C<br>IN moyen                          | -   | -   | $\geq$ 2,8 | 3,1 | $\geq$ 2,6 | $\geq$ 3,5 | 2,8 | 2,9 | 2,4 | 2,6 |
| Lot C<br>Nbre de canetons dont IN $\geq$ 2 | -   | -   | 10         | 12  | 10         | 12         | 13  | 11  | 9   | 10  |



Il en ressort qu'il existe bien, comme supposé, une interférence entre les anticorps parentaux et la souche vaccinale pour les lots A et B. Elle se produit vraisemblablement encore un peu lors de la vaccination à quatre semaines mais il est préférable de ne pas vacciner au delà de cette date si l'on veut éviter le risque de voir le virus sauvage devancer le virus vaccinal.

La date de vaccination optimale des canetons de Barbarie issus de parents vaccinés semble donc la quatrième semaine.

### 3° - Programme de vaccination

Des études précédentes on a déduit le programme de vaccination suivant :

#### - vaccination des sujets reproducteurs :

- primovaccination : 1 ml ( $10^{2,5}$  DICT 50) par voie intramusculaire ou sous-cutanée à l'âge de 4 semaines.

#### - rappel :

##### - en milieu sain :

- . 1 injection de 1 ml à l'entrée en ponte.

##### - en milieu contaminé :

- . 1 injection de 1 ml à 13 semaines,

- . 1 injection de 1 ml à l'entrée en ponte.

#### - vaccination des sujets-chair :

1 ml pour les oisons, 0,5 ml pour les canetons de Barbarie.



- cas des sujets issus de parents vaccinés régulièrement :
  - . primovaccination à l'âge de 28 jours,
  - . rappel à 14 semaines.
  
- cas des sujets issus de parents non vaccinés régulièrement :
  - . 1 injection de sérum à l'arrivée dans l'élevage,
  - . 1 injection de vaccin à 28 jours,
  - . 1 injection de vaccin à 14 semaines ( futurs reproducteurs ).

Les résultats d'application de ce programme de vaccination relativement récent ont été concluants :

- au niveau des couvoirs : amélioration du taux d'éclosion prouvant ainsi qu'il y avait probablement blocage de la transmission verticale grâce au titre élevé en anticorps obtenus chez les reproducteurs à la suite de la vaccination.
  
- dans les élevages de canards destinés à l'abattage : amélioration des performances ( voir tableaux ci-après ).



1 - Résultats GRIMAUD

|                                              | mâles<br>vaccinés | mâles<br>témoins | Gain  | femelles<br>vaccinées | femelles<br>témoins | Gain  |
|----------------------------------------------|-------------------|------------------|-------|-----------------------|---------------------|-------|
| Emplumement                                  | très bon          | médiocre         |       | très bon              | médiocre            |       |
| Poids moyen à<br>l'abattage<br>(10 semaines) | 3 301 g           | 3 158 g          | 143 g | 1 900 g               | 1 786 g             | 114 g |

Sur 1 150 sujets, issus de parents vaccinés, 815 ont été vaccinés à 4 semaines et 330 gardés comme témoins.

- les résultats des témoins portent sur les 138 sujets commercialisables, les 190 qui restent nécessitent 15 jours d'élevage supplémentaires.
- tous les sujets vaccinés sont commercialisables.

2 - Résultats SANDERS

|                                           | mâles<br>vaccinés | mâles<br>témoins | Gain  | femelles<br>vaccinées | femelles<br>témoins | Gain |
|-------------------------------------------|-------------------|------------------|-------|-----------------------|---------------------|------|
| % des sujets à bon<br>emplumement         | 93                | 90               | 3     | 97                    | 79                  | 16   |
| Poids moyen à<br>l'abattage ( 70 j )      | 3 157 g           | 2 700 g          | 457 g | 1 980 g               | 1 838 g             | 92 g |
| Indice de consom-<br>mation<br>(0 à 70 j) | 2,20              | 3,33             | 0,53  | 3,40                  | 3,66                | 0,26 |

L'expérience porte sur 324 sujets issus de parents vaccinés dont 162 ont été vaccinés à 3 semaines et 162 gardés comme témoins.



Par contre, chez l'oie, entre l'âge de deux, cinq et six mois, les oisons vaccinés meurent dans les mêmes proportions que les oisons non vaccinés.

Il semble même que, dans certains cas, la vaccination soit un facteur déclenchant de cette maladie.

Si l'on en croit SCHETTLER (68) et certains techniciens français, ces cas seraient dus à un autre agent que le parvovirus de la maladie de Derzsy. Nous reviendrons sur ce sujet dans le chapitre intitulé : " Autres affections virales des Anatidés".

## CONCLUSIONS

Des progrès importants ont été réalisés dans la lutte contre la maladie de Derzsy. En même temps, l'application d'une vaccination efficace a permis de constater qu'elle n'était pas toujours à l'origine de toutes les manifestations pathologiques de certains élevages en particulier d'oisons. C'est donc encore une fois le diagnostic, et lui seul, qui permettra de mieux orienter la prophylaxie.



## IV - Autres Maladies Virales des Anatidés

Si le stade actuel des connaissances en matière de pathologie virale des anatidés nous a permis de pouvoir faire rapidement le point sur les trois principales maladies d'actualité de cette famille, il importe de savoir qu'en pratique l'interférence d'un grand nombre d'autres affections intercurrentes vient compliquer le diagnostic. Quand ces dernières sont d'origine bactérienne, les difficultés d'identification sont mineures en particulier au niveau du laboratoire mais lorsqu'elles sont d'origine virale, le problème est plus complexe, car il est fréquent d'incriminer de nouveaux virus au cours de maladies à syndrome d'étiologie indéterminée.

C'est pourquoi, il nous a paru nécessaire de compléter nos descriptions par un inventaire plus rapide des autres virus accusés d'avoir provoqué des troubles pathologiques chez les palmipèdes.

Ont été signalés dans la littérature : des adénovirus, des myxovirus, des réovirus, et nous réserverons à la fin une place spéciale à la " néphrite et entérite hémorragique de l'oie" (NEHO) décrite récemment par SCHETTLER et suspectée par de nombreux spécialistes français.

### ADENOVIRUS

Les adénovirus sont peut-être les virus les mieux connus du point de vue de leur morphologie et de leurs caractères physico-chimiques. Fortement répandus parmi les espèces animales, on a longtemps cru que leur pouvoir pathogène pouvait être négligé du fait de



la prédominance des maladies auxquelles ils étaient associés. Or, il apparaît que leur rôle a son importance, par suite de leur intervention secondaire qui semble exacerber certains effets dus aux autres infections.

Cela se vérifie chez les anatidés. En effet, deux équipes de chercheurs CSONTOS en Hongrie, DANNACHER en France (13-14) ont publié sur ce groupe de virus des travaux d'après lesquels les agents mis en cause paraissent bien définis alors que les troubles pathologiques qu'ils engendrent restent imprécis avec une exception pour le virus de COUDERT (virus  $\alpha$  ).

Dans ses études, CSONTOS (13) déclare avoir isolé 26 souches d'adénovirus à partir des matières fécales d'oisons sans pour autant les caractériser individuellement. Rien ne prouve qu'il ne s'agit pas d'une seule et même souche, aussi est-il préférable d'attendre des études ultérieures que cet auteur ne semble pas avoir poursuivies.

Par ailleurs, de tous les examens effectués par l'équipe du Laboratoire de Virologie Animale de Lyon, un seul adénovirus a pu être isolé : le virus  $\alpha$  (2), ayant un effet cytopathogène sur les cultures de cellules d'embryons d'oies. C'est un virus à ADN dénué d'enveloppe comme le prouve le test à l'éther et dont la taille estimée par filtration et microscopie électronique est approximativement de 75 nm.

DANNACHER, COUDERT et Coll. (14) en inoculant le virus  $\alpha$  à des oisons de cinq jours ont constaté qu'il entraînait la mortalité treize à quatorze jours après inoculation, alors que son inoculation simultanée avec le parvovirus  $\beta$  est suivie d'une mortalité beaucoup plus rapide ( incubation environ deux fois plus courte).



Il semble donc bien que les adénovirus soient des découvertes de laboratoire; mais il convient de ne pas les négliger car il est fort possible, si l'on se réfère aux travaux de COUDERT et DANNACHER, qu'ils exacerbent certains syndromes pathologiques ( comme c'est le cas chez les autres volailles ).

### MYXOVIRUS (ou INFLUENZA)

Le groupe des myxovirus comprend des virus pathogènes pour de nombreuses espèces animales ( exemple : peste aviaire ) et pour l'homme ( exemple : grippe ). La présence de virus de ce groupe a été signalée par HWANG (36) chez le canard de Barbarie et HIGGINS (31) chez le canard commun.

Dans le cas observé par HWANG, les canards de Barbarie présentaient des lésions semblables à celles de la maladie de Derzsy ce qui laisserait supposer qu'il y avait association myxovirus-parvovirus. En fait, on peut reprocher à l'auteur de n'avoir pas essayé de reproduire la maladie interdisant ainsi toute conclusion sur le rôle pathogène du myxovirus.

De son côté, HIGGINS à Hong-Kong a observé une épidémie sur des canards communs caractérisée par une extension rapide et un fort taux de morbidité et de mortalité ; les manifestations étaient : malaise, anorexie, diarrhée, jetage oculo-nasal, paraplégie et chute de ponte. A l'examen post-mortem, foie, poumons et tractus respiratoires supérieurs étaient les organes les plus fréquemment lésés et à partir desquels l'auteur a isolé des virus Influenza A. La même critique que précédemment peut être formulée à savoir que l'absence de reproduction de la maladie nuit à la valeur du diagnostic.



## REOVIRUS

Au cours des années 1972-1973, certains virologistes ont cru que ce qui allait devenir la maladie de Derzsy était due à plusieurs réovirus. En effet, il faut savoir que réovirus et parvovirus présentent les mêmes caractères physico-chimiques à deux facteurs près : leur taille et leur sensibilité différente à la bromodioxyuridine. Il en résulte que dans la littérature spécialisée de cette époque, on trouve des travaux sur la maladie de l'oison due à un réovirus alors que le virus en cause était en fait un parvovirus.

Il faut toutefois signaler une exception avec MANDELLI (57-58) qui, observant au microscope électronique des sections ultra-fines de coeur prélevé sur des jeunes oies, a mis en évidence des particules virales dont la morphologie les a fait considérer comme appartenant aux réovirus. Ces oies avaient au préalable été infectées avec une souche de virus isolée en Italie et présentaient des manifestations semblables à celles de la maladie de Derzsy avec altérations dégénératives du myocarde.

De leur côté, CSONTOS et Coll. (11) font part de la découverte d'un réovirus responsable de l' "influenza de l'oie", mais la confusion avec la maladie de Derzsy persiste.

Quant aux réovirus du canard de Barbarie, il en existe si l'on en croit les publications de GAUDRY au moins deux types différents : K et Bu. Le premier de ces virus, isolé en 1970, a été répertorié sous le sigle de virus K, cette lettre étant l'initiale de KASCHULA (45) qui a décrit une maladie caractérisée par une péricardite et une splénomégalie accompagnées de nécrose punctiforme chez les canards de Barbarie. Si cet auteur a mis en évidence des propriétés d'infectiosité et de filtrabilité sur filtre de porosité 0,3  $\mu$ , il n'a pas pu caractériser l'agent, d'où le doute qui subsiste. Cependant, GAUDRY a pensé qu'il pouvait s'agir



du virus isolé en 1970 chez des canards de Barbarie de quatre semaines et présentant les mêmes lésions.

Ultérieurement, en 1972, a été isolé le deuxième type, le virus Bu, dont les seules différences avec le virus K sont sa sensibilité à l'action de la trypsine et surtout son effet cytopathogène sur cellules d'embryons de canard de Barbarie et d'embryons de poulet.

Nous n'insisterons pas outre mesure sur ces affections à réovirus, dont l'incidence sur la pathologie des palmipèdes reste encore hypothétique, pour nous pencher avec plus d'attention sur l'étude d'une maladie de l'oie décrite très récemment au congrès de la WPSA\* (Malte, Septembre 1976) (68) et qui a retenu l'intérêt des virologistes : la néphrite et entérite hémorragique de l'oie (NEHO).

#### NEPHRITE et ENTERITE HEMORRAGIQUE de l' OIE (NEHO)

La NEHO semble être une affection spécifique de l'oie dont l'étiologie encore inconnue ne fait pas l'accord des spécialistes bien que son origine virale soit fortement suspectée.

Il semble cependant qu'une certaine unanimité se fasse sur les symptômes et les lésions observés. En France, la maladie est d'évolution très rapide sur de beaux sujets âgés de deux mois et demi à trois mois dont 20 à 60 % meurent brutalement sans symptômes caractéristiques : l'animal malade se tient à l'écart du troupeau, présente des troubles nerveux et des mouvements spasmodiques de la tête. Tout "stress" ou manipulation du sujet entraîne une augmentation de l'intensité de ces symptômes et l'oiseau meurt en quelques heures.

\* WPSA : World Poultry Science Association.



A l'autopsie, la vue des lésions rénales ne laisse aucun doute sur la mort par crise d'urémie. D'après la description de SCHETTLER (68) les reins sont nettement hypertrophiés avec des zones blanc-jaunâtre circulaires, à liséré hémorragique. Dans certains cas, ils apparaissent entièrement décolorés. L'analyse du sang périphérique avant la mort révèle une forte augmentation de la concentration en acide urique.

Le tableau lésionnel est dominé par un début de congestion avec même des nappes hémorragiques d'abord sur le duodénum puis sur l'ensemble de l'intestion. On peut remarquer enfin une rate hypertrophiée (trois à cinq fois son volume normal) et également d'importants dépôts d'aspect gélatineux sur le mésentère.

Pour certains chercheurs (10) qui ont réussi à reproduire les lésions de la NEHO en inoculant un parvovirus ( souche  $\beta$  ) à des oisons de plusieurs semaines, cette affection est une forme tardive de la maladie de Derzsy causée par un parvovirus. Pour d'autres virologistes, comme SCHETTLER dans sa communication au Congrès de Malte de Septembre 1976 (68), il s'agit de deux affections différentes causées par deux virus bien distincts.

C'est pourquoi, après avoir hésité entre traiter ce sujet dans ce chapitre ou le faire dans le chapitre de la maladie de Derzsy, notre choix s'est finalement fondé sur la présentation de la communication de SCHETTLER à l' Ile de Malte et la communication personnelle par GAUDRY du résultat de contrôles effectués très récemment : au cours de ces contrôles, des oisons de deux mois et demi, dont le titre élevé ( $IN \geq 4$ ) en anticorps séroneutralisants anti-parvovirus laissait supposer une immunité solide vis-à-vis de la maladie de Derzsy, sont morts en présentant des lésions typiques de la NEHO.



En outre, des vétérinaires praticiens du Sud-Ouest de la France, tout en observant une régression des formes classiques de la maladie de Derzsy à la suite des vaccinations ou de l'utilisation du sérum ont vu persister les cas de mortalité chez des sujets âgés de deux mois et demi vaccinés ou non contre cette maladie. On peut donc dire que le fait d'avoir réussi à enrayer en partie cette maladie a permis d'en mettre de nouvelles en évidence dont la NEHO est le premier exemple. Les chercheurs allemands et français se sont attachés à ce problème et portent à l'heure actuelle un effort particulier sur la détermination de l'étiologie de cette affection pour tenter de lever le doute.

### CONCLUSION

Les études entreprises sur les maladies virales des palmipèdes ont non seulement permis de lutter efficacement contre certaines d'entre elles par l'application de prophylaxies sanitaire et médicale, mais ont également révélé l'existence d'autres virus. Ces virus sont des découvertes de laboratoire et il n'est pas possible pour le moment de se prononcer sur leur rôle et leur action au niveau des élevages.

Des cas analogues à la NEHO se reproduiront certainement et le diagnostic de laboratoire doit être là pour permettre une intervention rapide sur le terrain.



## 2ème Partie

### L'AVENIR du DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL des MALADIES à VIRUS des ANATIDES

Lorsqu'on passe en revue, comme nous venons de le faire, les principales connaissances en matière de pathologie virale aviaire placée dans le contexte économique plus restreint des élevages industriels d'oies et de canards tels qu'ils se sont développés, on ne peut manquer d'être frappés par les points suivants :

- ces maladies sévissent pour la plupart avec un fort taux de mortalité,
- l'immunisation passive est un palliatif plus ou moins valable sur le plan économique,
- la vaccination est le seul moyen de lutte efficace,
- le diagnostic clinique ou nécropsique sur le terrain par le vétérinaire praticien est toujours très difficile à poser tellement les signes et les lésions sont voisins quel que soit l'agent incriminé.
- enfin, tout se passe comme si, après avoir commencé à lever le voile sur les maladies à virus de ces espèces, toute nouvelle acquisition en la matière et tout succès obtenu en prophylaxie levaient un peu plus ce voile pour laisser apparaître les autres virus rendus dès lors plus visibles par l'inhibition des précédents.



A l'issue de ces considérations, il apparaît qu'une chose importe avant tout : l'isolement du virus en cause pour, soit confirmer un diagnostic suspecté, soit mettre en évidence une étiologie encore inconnue. C'est là le rôle du diagnostic expérimental de laboratoire qu'il serait souhaitable de pouvoir mettre en oeuvre plus souvent que cela ne semble l'être actuellement. L'expérience que nous avons pu avoir de ces techniques dans un laboratoire dont c'est la spécialité, nous a incités à en exposer les détails de façon à pouvoir ensuite discuter des modalités et des possibilités d'application pratique dans un rythme de routine.

Dans un premier temps, nous décrirons le processus et les techniques à suivre pour un diagnostic expérimental avec :

- une étape préliminaire à respecter,
- le diagnostic virologique proprement dit dans ses modalités générales pour la recherche des virus.
- le diagnostic spécifique des virus des anatidés.

Dans un deuxième temps, nous discuterons de sa mise en pratique.



## I - Diagnostic expérimental

### I - ETAPE PRELIMINAIRE

Cette phase comprend toutes les opérations préalables qui doivent, d'une part, précéder et orienter les recherches, d'autre part, permettre de décider de l'intérêt ou non de ce diagnostic.

#### - Commémoratifs.

Comme pour le médecin dans son cabinet, ou le vétérinaire au cours de ses visites, les commémoratifs sont tout autant précieux à l'homme de laboratoire qui en déduit la marche à suivre dans son travail. En fonction du germe d'origine, les maladies se manifestent selon un déroulement nanti d'une certaine spécificité. Il suffit d'un détail pour guider une étude. C'est pourquoi nous avons cherché à rendre plus aisée la collecte de ces commémoratifs en élaborant un questionnaire ( annexe IV) qui pourrait être rempli par les éleveurs avec l'aide de leur vétérinaire et adressé au laboratoire en même temps que les prélèvements. Nous n'ignorons pas la difficulté que cela représente et les contraintes engendrées. Mais il suffit peut-être de faire valoir l'avantage d'une telle procédure sur les inconvénients d'un diagnostic manqué ou retardé.

#### - Nature et expédition des prélèvements

De la qualité des prélèvements dépend la suite des manipulations au laboratoire. Aussi, importe-t-il de pouvoir disposer d'organes



frais dans lesquels le ou les virus survivent encore et sont donc capables de se multiplier dès qu'ils sont placés dans un milieu de culture convenable. Il s'agit le plus souvent de foie, de rate ou mieux encore, quand cela est possible, de l'animal vivant malade. Etant données la résistance et la stabilité du virus au froid, l'expédition en récipient réfrigéré est le procédé de choix,

- soit à + 4° C avec de la glace mais à condition que les échantillons parviennent dans les 36 heures qui suivent les prélèvements.

- soit à -70° C avec du carboglace, méthode qui présente toutefois un inconvénient : le risque de voir éclater les cellules, donc de détruire le virus si celui-ci est du type " virus associé aux cellules". Ce type de virus ne garde son infectivité que si la cellule qui le contient reste vivante. Il faudra donc s'attacher à respecter l'intégrité de ces cellules en les conservant en azote liquide ou en carboglace. Cette propriété est fort connue des éleveurs de poules pondeuses qui, avant que ne soit mis au point un vaccin lyophilisé hétérologue, ont dû utiliser pour lutter contre la maladie de Marek un vaccin constitué par une suspension de cellules contenant des particules vaccinales, qu'il fallait conserver en azote liquide.

#### - recherche d'une bactérie pathogène

Les prélèvements étant arrivés au laboratoire, la première chose à faire est de s'assurer que les incidents survenus sur le terrain ne sont pas dus à une bactérie. Il est hors de notre propos de décrire ici la technique d'isolement bactériologique plus connue et d'usage plus répandu. Mais il y a lieu d'insister sur la nécessité, en cas de culture positive, de procéder à leur inoculation aux espèces animales concernées, en l'occurrence : canards ou oies, et de vérifier ainsi s'il y a reproduction ou non des troubles pathologiques observés dans les élevages concernés.



Dans le cas où cette vérification est positive, le diagnostic est posé. Dans le cas contraire, on pourra alors aborder la phase du diagnostic viral proprement dit.

## II - DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL des VIRUS en GENERAL

Un certain nombre de principes généraux régissent la pratique du diagnostic expérimental des virus au laboratoire dans les méthodes à appliquer qui exigent avant tout de pouvoir disposer :

- d'animaux pour l'inoculation du virus afin de reproduire la maladie : c'est la recherche "in vivo".
- d'un équipement pour la culture du virus sur tissus : c'est la recherche "in vitro".

Nous plaçant donc dans l'optique des exigences que peut présenter la conception d'un laboratoire destiné à cet usage, nous examinerons successivement :

- les locaux nécessaires,
- le matériel à utiliser,
- les méthodes à mettre en oeuvre.

### 1° - Locaux

Pour le travail sur animaux, il faut avoir :

- une animalerie composée de plusieurs boxes isolés de façon à pouvoir les désinfecter aisément aux vapeurs de formol et pouvant être munis d'une réserve suffisante de nourriture ( 12 à 15 jours de stock environ) de façon à limiter au maximum les contacts hommes-animaux.
- une salle d'autopsie.



Pour les laboratoires, les installations classiques sont suffisantes en particulier pour travailler sur oeufs embryonnés. En revanche, les manipulations pour la culture de tissus sont plus délicates et donc plus exigeantes. Il est fortement conseillé d'employer une hotte à flux laminaire si l'on veut éviter les contaminations bactériennes des milieux de culture.

## 2° - Matériel

Il faut distinguer sous cette appellation : le matériel de laboratoire proprement dit, le matériel biologique, et les milieux de culture dont nous ferons simplement l'énumération.:

### - matériel de laboratoire

#### - matériel principal :

- . de type courant au laboratoire : congélateur, réfrigérateur, centrifugeuse, autoclave, bain-marie, microscope inversé (grossissement de 40 à 100).
- . spécifique à la virologie : incubateur pour oeufs embryonnés, éclosoir (facultatif), incubateur à CO<sub>2</sub> (atmosphère à 5 % CO<sub>2</sub>) pour cultures de tissus.

#### - matériel secondaire :

- . boîtes de Petri disposables de 60 mm ou 100 mm de diamètre \*
- . agitateur magnétique
- . petit matériel courant : pipettes, seringues ( si possible disposables) pinces, ciseaux inoxydables.

\* Falcon Plastics 1950 Williams drive Oxnard  
CA 93030 (U.S.A.)



### - matériel biologique

- des animaux sensibles et des oeufs embryonnés issus de sujets sensibles, c'est-à-dire dont le sérum ne contient pas les anticorps spécifiques de la maladie à étudier.
- des souches vaccinales et des sérums monovalents hyperimmuns (sérums de référence)
- éventuellement des souches pathogènes.

### - milieux de culture

#### - Milieu de culture F 10

Le milieu F 10 est particulièrement riche en acides aminés et permet une croissance très rapide des cellules mises en culture. Il est utilisé sous deux formes pour la culture des cellules :

- . milieu de croissance (F 10 C) ( annexe II )
- . milieu d'entretien (F 10 E)

- "Phosphate buffer solution" (PBS) (annexe II)
- Solutions de trypsine et de trypsine-versène (annexe III)

Les annexes II et III donnent la formule et la nature de ces différents milieux.

### 3° - Méthodes générales

Elles concernent les procédés de multiplication du virus et ceux d'identification.



## A - Multiplication du virus

On distingue des méthodes "in vivo" et des méthodes "in vitro" :

### a) Méthodes "in vivo" : inoculation sur animaux sensibles

- but : technique utilisée pour chercher à mettre en évidence le caractère de transmissibilité de la maladie.
- principe : utiliser des animaux jeunes ( 1 à 5 jours), appartenant à l'espèce d'où provient le prélèvement, et sensibles , c'est-à-dire sans anticorps susceptibles de bloquer la multiplication de l'agent recherché.

L'inoculation se fait par plusieurs voies. En effet, il convient dans ce cas de reproduire la maladie en augmentant les chances de multiplication du virus, sans savoir par quelle voie il se transmet préférentiellement.

- technique : elle consiste à inoculer à ces animaux sensibles une solution censée contenir le virus à rechercher puis à observer les effets provoqués en prenant soin de conserver dans un autre box isolé des oiseaux sains servant comme témoins.
- . l'inoculum est fourni par le surnageant d'un broyat de foie ou de rate suspect filtré ou non sur filtre de porosité 0,3  $\mu$ .
- . la dose administrée et la voie d'inoculation sont variables ,  
A titre d'exemple, pour des jeunes sujets âgés de moins de 5 jours :



- 0,2 ml par voie intramusculaire ;
- 0,2 ml per os ;
- 0,1 ml par voie nasale
- 0,05 ml dans l'oeil.

. L'observation des animaux se fait quotidiennement pendant un maximum de trois semaines.

Cette méthode "in vivo" nécessite, il faut le rappeler, de pouvoir disposer de jeunes oiseaux sensibles, ce qui n'est pas toujours aisé. C'est pourquoi, l'utilisation des méthodes "in vitro" s'est révélée d'un grand secours.

b) Méthodes "in vitro" : multiplication dans l'oeuf embryonné ou sur cultures de tissus.

- but : adapter l'agent infectieux isolé à l'oeuf embryonné ou à la culture de tissu (CT) jusqu'à ce qu'il soit possible de calculer un titre infectieux puis d'effectuer une séroneutralisation qui permettra de caractériser l'agent infectieux.

- principe : utiliser le système cellulaire le plus proche de l'hôte où a été isolé l'agent : oeuf embryonné d'oie pour les oisons, oeuf embryonné de cane pour les canetons etc.. ce qui permet d'utiliser ultérieurement la technique de la culture de tissu.

- techniques

- pour l'oeuf embryonné

. l'inoculum, comme pour la méthode "in vivo", consiste en un broyat d'organes filtrés sur 0,3  $\mu$ .

. techniques d'inoculation :

elles sont variables selon la voie d'inoculation utilisée.



#### Par la voie intra-allantoïdienne

avec 0,1 ml d'inoculum et des oeufs de 11 à 13 jours. Mirer l'oeuf pour vérifier que l'embryon est toujours vivant ; repérer un endroit situé près d'une veine de la membrane chorio-allantoïdienne (MCA) en faisant une croix au crayon à environ 3 mm de cette veine ; percer la coquille à cet endroit et la membrane coquillière au niveau de la chambre à air ; inoculer à l'aide d'une seringue à insuline montée d'une aiguille de 1/10mm de diamètre en évitant de pénétrer à plus de 2 à 3 mm.

#### Par la voie chorio-allantoïdienne

avec 0,1 ml d'inoculum et des oeufs embryonnés au 13ème-16ème jour d'incubation. Pour cela, inciser à l'aide d'un poinçon la coquille et la membrane coquillière au niveau de la chambre à air, sous le contrôle d'une mireuse. Provoquer une aspiration à ce niveau de façon à déplacer la MCA en formant une cavité sur la partie latérale de l'oeuf qu'il faut maintenir vers le haut en conservant l'oeuf couché.

Inoculer enfin la suspension de virus sur la MCA selon le même procédé que précédemment.

#### Par la voie intra-vitelline

avec 0,2 ml d'inoculum et des oeufs embryonnés de 7 à 10 jours. Percer la partie supérieure de l'oeuf au niveau de la chambre à air puis inoculer le virus à l'aide d'une aiguille en pénétrant verticalement sur les 2/3 de la hauteur de l'oeuf.



Dans tous les cas, l'inoculation terminée, les oeufs sont remis en incubation ; 24 heures après, ils sont mirés et les oeufs dont les embryons sont morts sont éliminés, cette mort n'étant pas spécifique. On procède ensuite au mirage quotidien pour récolter les embryons et les MCA des oeufs morts. A la fin de la période d'observation, liquide allantoïdien, embryon et MCA de tous les oeufs sont récoltés. Le matériel recueilli est conservé au congélateur. Au cours de ces opérations, il faut prendre soin d'examiner les lésions éventuelles de la MCA, comme par exemple des "pocks" dont la taille et le degré de translucidité peuvent être un élément intéressant pour l'orientation du diagnostic, et l'aspect général de l'embryon mort : degré de développement, allure desséchée ou oedémateuse, position des pattes.

Plusieurs passages successifs en série (1 à 5) sont parfois nécessaires pour obtenir une adaptation correcte à l'embryon. Dans le même temps, on doit rechercher le caractère hémagglutinant du virus présent à partir du liquide allantoïdien du dernier passage.

#### - pour la culture de tissu

Cette technique vise à mettre en évidence l'effet cytopathogène provoqué par le virus sur les cellules, effet qui peut être significatif et déjà apporter dans un premier temps une suspicion. D'autre part, si le titre infectieux est suffisant on peut en même temps effectuer une séro-agglutination. Il faut naturellement réaliser plusieurs passages et faire attention à inoculer le virus à ces cellules jeunes pendant la phase de mitose, et conserver systématiquement des cultures "témoin". Enfin, il n'est pas superflu de rappeler que toutes ces manipulations doivent se faire stérilement.



Nous décrirons la méthode des passages avant de donner quelques précisions sur les lésions cellulaires observées au cours de ces cultures.

- Méthode des passages.

► passage n° 1

. Prélèvement des embryons.

Imbiber d'alcool iodé une gaze, la passer sur le tiers supérieur de l'oeuf côté chambre à air, saisir l'embryon au niveau du cou au moyen d'une longue pince, puis le placer dans un bocal contenant du PBS (annexe II).

Rincer deux fois les embryons, détacher les pattes et la tête du corps et les rejeter ; rincer à nouveau deux fois en PBS,

. Trypsination

Transvaser les embryons dans un erlen à trypsiner, ajouter de la trypsine (annexe III) chauffée extemporanément à 37°, à raison de 7 à 10 ml de trypsine par embryon, maintenir le tout en agitation douce en bain-marie à 37° C pendant 10 minutes, puis laisser reposer les agrégats cellulaires une à deux minutes. Ensuite, verser le surnageant dans un godet contenant environ 10 ml de sérum de veau pour bloquer l'action de la trypsine.

Ajouter à nouveau sur le culot cellulaire restant au fond de l'erlen de la trypsine et recommencer l'opération précédente, le surnageant obtenu étant mélangé au précédent.

. Mise en culture des cellules fraîchement trypsinées.

Centrifuger à 500 g les cellules en suspension dans la trypsine. Eliminer le surnageant et reprendre le culot cellulaire en milieu F 10 à raison de 7 à 10 ml de F 10 C pour un embryon trypsiné.



Compter les cellules avec une cellule de Thoma et ajouter les concentrations cellulaires de façon à répartir :

- 5 ml de F 10 C contenant 4 millions de cellules par boîte de Petri de 60 mm de diamètre,
- 15 ml de F 10 C contenant 10 millions de cellules par boîtes de Petri de 100 mm de diamètre.

Placer ensuite les boîtes dans l'incubateur à 37° C.

#### . Changement de milieu

20 à 24 heures après la mise en culture quand le tapis cellulaire doit recouvrir au moins 80 % de la surface de la boîte et que de nombreuses cellules sont en mitose, éliminer le milieu de croissance des boîtes de Petri et le remplacer par du milieu F 10 E. Renouveler ainsi le milieu d'entretien tous les trois à cinq jours en fonction de l'état des cellules.

#### . Inoculum

Utiliser le broyat de foie filtré (BFF) dont la densité doit être la plus importante possible sans être toxique pour les cellules (d'où la nécessité de garder des cellules "témoins" de comparaison.) En pratique, inoculer deux dilutions différentes ( X et 1/10 X).

#### . Inoculation

Éliminer le milieu F 10 C immédiatement avant l'inoculation qui se fait avec du BFF au 1/10 et au 1/500. Préparer trois boîtes par dilution, puis les placer dans l'incubateur à 39° C pendant 30 minutes pour faciliter l'adsorption du virus. Recouvrir ensuite de milieu d'entretien F 10 E (15 ml par boîte de 100 mm) et mettre dans un incubateur maintenu en atmosphère à 5 % de CO<sub>2</sub> pendant 7 jours.



### ► Passage n° 2 ou subculture

La subculture consiste en la mise en culture de la récolte des cellules infectées du passage n° 1.

#### . Récolte des cellules primaires infectées

Rejeter soigneusement le milieu F 10 de chaque boîte de Pétri. Rincer le tapis cellulaire avec du PBS (10 ml par boîte) pour éliminer toute trace de sérum. Répartir rapidement 3 ml d'une solution de trypsine-versène contenant 0,2<sup>0</sup>/100 de trypsine (annexe III) par boîte de Pétri en ayant pris la précaution de préchauffer la trypsine à 38° C. Dix à trente secondes plus tard, en fonction de la densité des cellules, éliminer la trypsine.

Placer les boîtes à 39° C, les traces de trypsine restant sur la boîte suffisent à séparer les cellules les unes des autres en cinq minutes. Bloquer l'action de la trypsine par addition de 2 ml par boîte de F 10 C contenant du sérum de veau.

#### . Mise en culture des cellules récoltées.

Compter les cellules avec une cellule de Thoma puis répartir à raison de 10 millions en 15 ml de F 10 C par boîtes de 100 mm. Inoculer à 39° C.

#### . Changement de milieux

La couche devant être complète en 5-7 heures, on peut attendre cependant 20 heures pour échanger le milieu de croissance contre le milieu F 10 E. Trois jours plus tard, en fonction de l'état du tapis cellulaire, on renouvelera le milieu F 10 E.



### ► Passage n° 3

Inoculer des cellules du 2ème passage sur des cellules primaires de 24 heures à raison de 3-4 millions de cellules du 2ème passage par boîte de Pétri de 100 mm.

Opérer selon la technique décrite dans le premier passage pour la mise en culture et celle décrite au deuxième passage pour la récolte.

### ► Passage n° 4

Procéder comme pour le deuxième passage et observer dix jours.

## - Examen des cultures

Chaque boîte de Pétri doit être examinée quotidiennement au microscope avec les grossissements 40 et 100, pendant toute la période d'observation de façon à contrôler l'apparition de l'effet cytopathogène et à en suivre l'évolution. On peut considérer que l'absence d' ECP après le quatrième passage autorise à conclure à l'absence de virus doté de pouvoir cytopathogène. Dans le cas contraire, le résultat est positif sous réserve de s'être assuré que les cultures témoins sont en bon état.

Lorsqu'il y a effet cytopathogène reconnu, il y a lieu d'y prêter une attention particulière car son aspect permet de déterminer le meilleur moment pour effectuer la récolte et procéder à l'ensemencement suivant. En effet, si la lyse cellulaire est faible, voire nulle, on prendra comme inoculum suivant les cellules du tapis ; si en



revanche, la lyse est importante, on attendra qu'elle atteigne 50 % du tapis cellulaire, moment optimum pour qu'il y ait toutes les chances que les particules virales soient libérées dans le milieu surnageant qui devient alors l'inoculum de choix.

## B - Identification du virus

Lorsqu'on a pu, par la technique précédente, mettre en évidence la présence d'un virus dont on a déterminé le titre infectieux exprimé soit en " doses infectieuses embryon 50 %" (DIE 50), soit en " doses infectieuses culture de tissus (DICT 50), il reste à caractériser ce virus par rapport à la maladie dont il a été l'agent, (que nous appellerons virus X). C'est ce que nous allons voir grâce à nouveau aux deux types d'examen "in vivo" et "in vitro".

### a) Méthode "in vivo" : utilisation d'animaux sensibles

Les commémoratifs, d'une part, et les caractères du virus relevés au cours de la phase de multiplication, d'autre part, doivent permettre de soupçonner à quel type d'affection virale (que nous dénommerons maladie à virus "Y") nous avons affaire.

Il faut donc vacciner contre la maladie à virus Y un groupe de sujets sensibles à l'agent X. Quand l'immunité est supposée être installée (10 jours après la vaccination s'il s'agit d'un vaccin vivant, trois semaines s'il s'agit d'un vaccin tué) le virus X est inoculé au lot Y de sujets vaccinés et à un lot T de témoins :

- si les sujets des lots Y et T présentent les mêmes troubles pathologiques, le virus Y est différent du virus X ( ou du moins appartient à un autre sérotype).



- si les sujets du lot Y demeurent en bonne santé alors que ceux du lot T présentent des troubles pathologiques, on peut conclure à l'identité des virus X et Y.

b) Méthode " in vitro " : séroneutralisation

On choisira pour cette méthode l'oeuf embryonné ou la culture de tissu à condition que le virus X à traiter ait été préalablement bien adapté à l'un ou à l'autre.

- but : vérifier l'identité du virus X en déterminant le pouvoir neutralisant d'un sérum de référence hyperimmun.
- principe : mettre en présence d'un sérum hyperimmun monovalent anti-maladie Y le virus inconnu X. La neutralisation par ce sérum de l'effet pathogène que ce virus entraîne, soit au niveau des cellules en culture, soit au niveau des oeufs embryonnés indique le degré de parenté entre X et Y.
- technique générale : préparer deux séries de dilution décimales de virus X qui sont mises en contact l'une avec un sérum négatif ( $S^-$ ) et l'autre avec un sérum hyperimmun monovalent  $S^+ Y$  neutralisant le virus Y de la maladie soupçonnée.

Après un temps convenable d'incubation, inoculer les mélanges aux oeufs et aux cultures ; examiner le jour suivant les cultures et déterminer le titre infectieux de  $(X + S^-)$  et de  $(X + S^+ Y)$  : la différence entre les deux exprimée en log 10 est l'indice de neutralisation (IN).

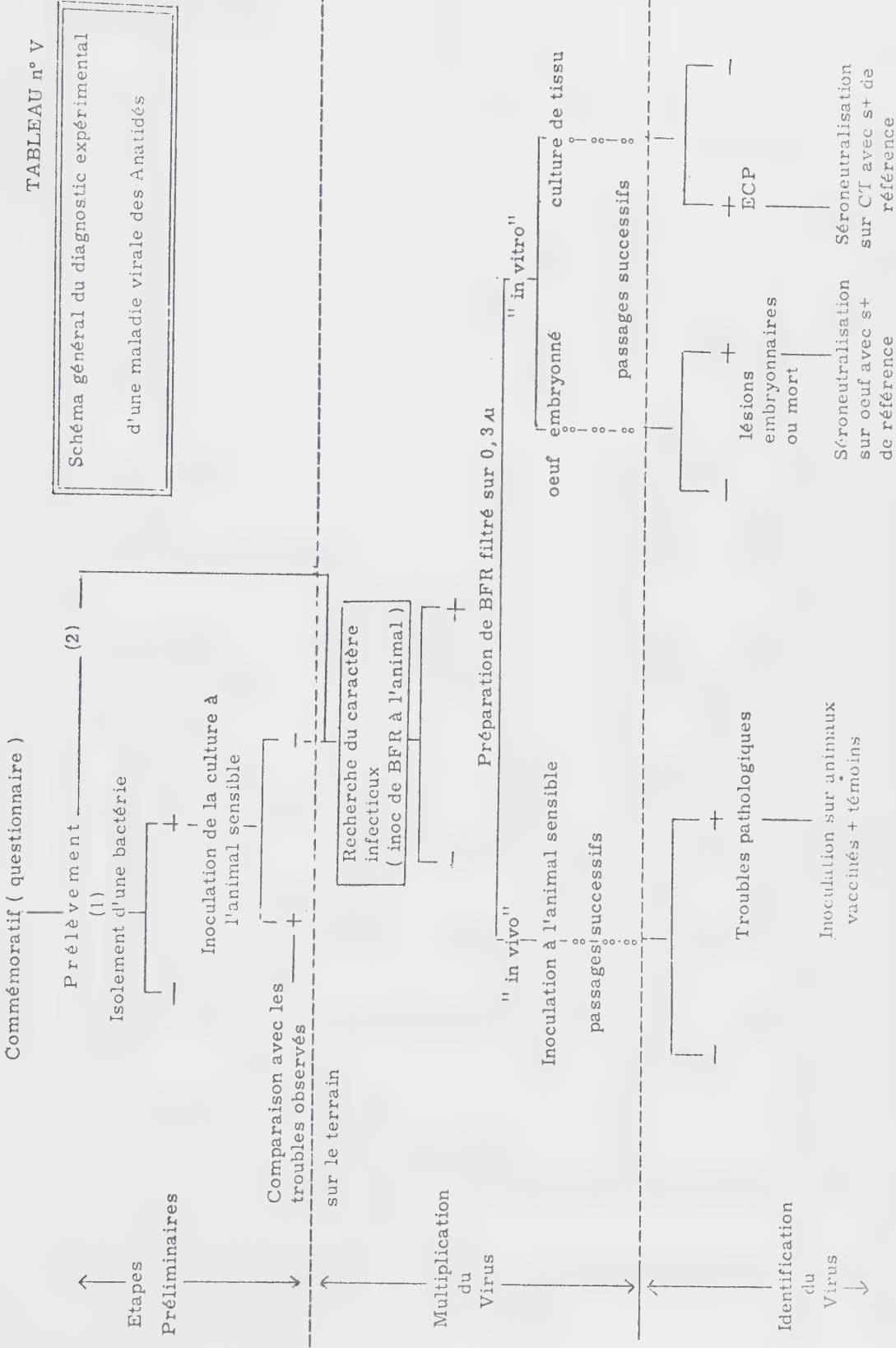


- Résultats : l'appréciation des résultats varie en fonction des maladies mais, à titre d'exemple, nous pouvons dire que :

- si  $IN < 1$ , X est différent de Y
- si  $IN > 2$ , X est du même type sérologique que Y.

En conclusion de ces méthodes générales et dans un souci de clarification, nous présentons sous forme d'un tableau synoptique ( tableau n° V) le déroulement des opérations à entreprendre lors d'un diagnostic expérimental de maladie virale.







### III - APPLICATION au DIAGNOSTIC EXPERIMENTAL des GRANDES MALADIES à VIRUS des ANATIDES

Connaissant les méthodes générales du diagnostic expérimental des maladies à virus, il convient maintenant d'apporter les précisions supplémentaires nécessaires à leur mise en application dans la recherche des trois maladies principales étudiées dans la première partie : l'hépatite à virus du caneton, la peste du canard et la maladie de Derszy. Les trois tableaux synoptiques ci-après (n°2-3-4) schématisent la procédure à suivre.

Faisant abstraction des étapes préliminaires, nous nous attacherons plus spécialement au problème posé par la multiplication et l'identification in vitro du virus proprement dit pour chaque cas.

#### 1° - Identification "in vitro" de l'hépatite à virus du caneton (tableau n° VI)

##### a) matériel

- virus X à identifier,
- sérum hyperimmun de référence anti-hépatite à virus du caneton ( $S^+$  HVC)
- oeufs embryonnés de 11 jours issus de poules SPF
- eau peptonnée
- sérum sans anticorps HVC ( $S^-$ )

##### b) méthode

- effectuer des dilutions de 10 en 10 de la suspension virale en eau peptonnée,
- mélanger à parties égales les dilutions du virus et les sérums dilués au 1/10 ( $S^+$  HVC et  $S^-$ )



- laisser en contact 3 heures à 37° C,
- inoculer par voie intra-allantoïdienne 0,1 ml de chaque dilution à 6 oeufs par dilution,
- replacer les oeufs en couveuse à 37° C,
- compter comme positifs les embryons morts entre 1 et 7 jours après inoculation, ainsi que les embryons vivants présentant à 7 jours, après inoculation, des lésions caractéristiques du virus de l'hépatite à virus du caneton.

### c) résultats

Le calcul des titres infectieux est effectué par la méthode de Kärber :

|                      |                          |
|----------------------|--------------------------|
| si $IN > 2$          | X est le virus HVC       |
| si $1,5 < IN \leq 2$ | résultat douteux         |
| si $IN \leq 1,5$     | X n'est pas le virus HVC |

## 2° - Identification "in vitro" de la peste du canard (tableau n° VII)

### a) matériel

- sérum hyperimmun spécifique anti-peste du canard inactivé au bain-marie une heure à 36° C ( $S^+$ )
- virus à tester X
- milieu de dilution : eau peptonée
- oeufs embryonnés de poule de 9 à 12 jours,
- sérum sans anticorps peste du canard ( $S^-$ )

### b) méthode

- effectuer des dilutions de 10 en 10 du virus employé,
- ajouter à chaque dilution virale une quantité égale de sérum dilué au 1/5 en eau physiologique stérile ( $S^+$  et  $S^-$ )



- placer les mélanges 30 minutes à 37° C,
- inoculer par voie chorio-allantoïdienne 0,1 ml de chaque dilution à 6 oeufs par dilution,
- effectuer un titrage du virus non neutralisé et du virus neutralisé,
- placer les oeufs à 38° C,
- effectuer la lecture définitive au bout de 7 jours. Ne tenir compte pour les calculs que de la mortalité spécifique survenant au delà de 24 heures.

### c) résultats

Calcul des titres infectieux effectué par la méthode de Kärber :

|                      |                                             |
|----------------------|---------------------------------------------|
| si $IN \geq 1,5$     | X est le virus de la peste du canard,       |
| si $1 < IN \leq 1,5$ | résultat douteux                            |
| si $IN \leq 1$       | X n'est pas le virus de la peste du canard. |

## 3° - Identification "in vitro" de la maladie de Derzsy (tableau n° VIII)

### a) matériel

- virus à tester X,
- sérum de référence hyperimmun anti-maladie de Derzsy ( $S^+MD$ ) et sérum sans anticorps ( $S^-$ )
- plaques Linbro cellulaires : réf. IS FB 96 (Linbro) avec couvercles pour plaques Microtest II, réf. 3041 (BD plastics).
- cultures primaires d'embryons de canard de Barbarie (CECB) âgées de 4 à 8 jours.
- milieux F 10 C et F 10 E.



b) méthode

## . Mise en culture

Trypsination des CECB (trypsine-versène) ; mise en suspension des cellules en F 10 E à raison de  $10^5$  cellules/ml. Répartition dans les cupules (0,2 ml contenant 20 000 cellules/ml).

## . Séroneutralisation

- 24 heures après la mise en culture, le tapis cellulaire doit être complet mais peu dense,
- effectuer des dilutions de 10 en 10 de la suspension virale F 10 E,
- diluer les sérums au 1/1000 en F 10 sans sérum,
- mélanger à parties égales les dilutions du virus et les sérums dilués ( $S^+$  -  $S^-$ ),
- laisser en contact 30 minutes à 37° C ,
- éliminer le milieu de croissance,
- répartir 0,1 ml de F 10 + 1 % SV dans les microcupules puis ajouter 0,2 ml par cupule du mélange virus-sérum, 6 cupules par dilution.

## . Lecture

Apprécier l'effet cytopathogène (ECP) à l'état frais, 8 jours après incubation à 37° C,

- témoins : tapis cellulaire sans artéfact - cellules bien distinctes,
- ECP : granulations très nombreuses sur le tapis.  
Au grossissement 40, la couche a un aspect piqueté.



Au grossissement 100, les noyaux cellulaires n'existent plus dans beaucoup de cellules. Il reste la trame des cellules (cytoplasme + membrane).

c) résultats

Calcul des titres infectieux effectué par la méthode de Kärber :

|                    |                                               |
|--------------------|-----------------------------------------------|
| si $IN > 2$        | X est le virus de la maladie de Derzsy,       |
| si $1 < IN \leq 2$ | résultat douteux                              |
| si $IN \leq 1$     | X n'est pas le virus de la maladie de Derzsy. |



RECHERCHE DU CARACTERE INFECTIEUX  
( inoc. de BFR au caneton commun)

TABLEAU n° VI

Diagnostic expérimental de  
l' Hépatite à virus du caneton ( HVC )

INOCULATION DE BFR filtré sur 0,3 µ

" IN VIVO "

AU CANETON COMMUN  
1 passage suffit

Observation pendant  
8 jours  
Hypertrophie du foie  
Pétéchie et hémorra-  
gies

VACCINATION de cane-  
tons à 1 jour  
Epreuve d'inoculation  
à 10 jours  
8 jours d'observation

OEUF EMBRYONNE

OEUF EMBRYONNE DE  
POULE  
2 à 6 passages  
successifs

+

OEUF EMBRYONNE DE  
CANE

-

Mort de l'embryon ou nanisme sans  
déformation - embryon desséché,  
pattes en extension vers l'avant,  
lésions hépatiques

SERONEUTRALISATION sur oeuf avec s<sup>+</sup> de référence  
Evaluation de l'indice de neutralisation ( IN )

+

IN > 2      1,5 < IN ≤ 2      IN ≤ 1,5

Difficulté  
d'obtenir des sujets  
sans anticorps.

Méthode de choix

Difficulté de trouver  
des oeufs de canes sans AC, donc  
nécessité de travailler avec des  
oeufs de poule.

Le virus HVC  
ne produisant pas d' ECP,  
cette méthode ne peut être  
utilisée.



RECHERCHE du CARACTERE INFECTIEUX  
( inoc. de BFR à caneton de Barbarie )

TABLEAU n° VII

Diagnostic expérimental de la  
Peste du Canard

INOCULATION BFR filtré sur 0,3 µ

"IN VIVO"

AU CANETON DE BARBARIE DE  
1 JOUR  
2 passages maximum

Observation pendant 10 jours  
Mort du caneton

VACCINATION de canetons de Bar-  
barie de 1 jour  
Epreuve d'inoculation à 10 j.  
10 jours d'observation

" in vitro "

OEUF EMBRYONNE DE  
CANETON DE BARBARIE  
Inoculation en MCA

1 à 3 passages  
Observation 7 jours

mort de l'embryon

CULTURE de TISSU  
cellules d'embryons de canard  
de Barbarie

2 à 4 passages  
Observation 7 jours

ECP

SERONEUTRALISATION sur oeuf  
avec s+ de référence

SERONEUTRALISATION sur CT  
avec s+ de référence

Méthode de choix car les AC parentaux  
ne sont pas transmis, donc les canetons de  
Barbarie sont sensibles à la naissance.  
- les canards de Barbarie sont choisis étant  
l'espèce la plus sensible à la Peste du  
canard.

Problème : faible pouvoir neutra-  
lisant des sérums.



RECHERCHE DU CARACTERE INFECTIEUX

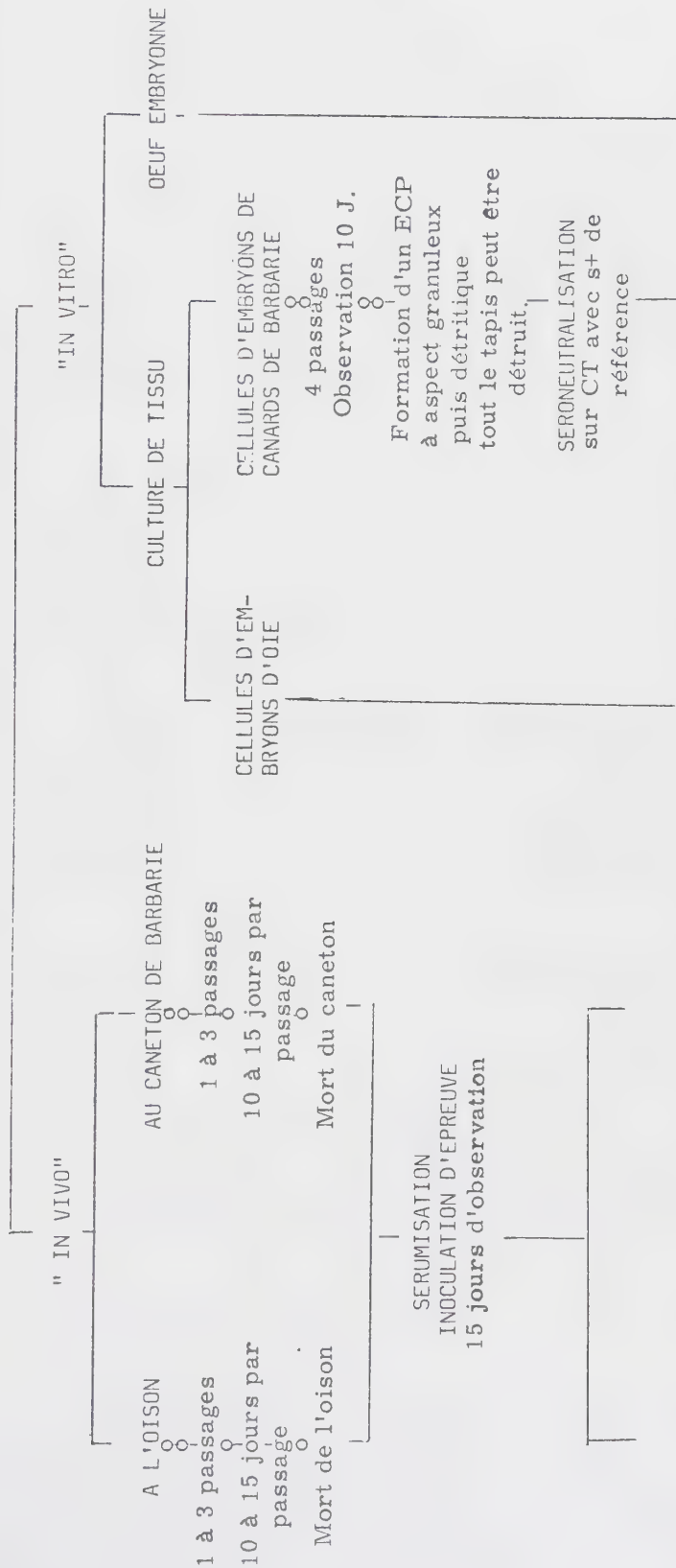
( inoc. de BFR au caneton de Barbarie ou à l'oison )

TABLEAU n° VIII

Diagnostic expérimental.

de la maladie de Derzsy ( MD )

INDUCTION DE BFR filtré sur 0,3  $\mu$



Problème : nécessité d'emploi d'oisons sans anticorps.

Problème : pas de canetons de Barbarie de 1 jour disponible actuellement sans Anticorps.

Problème : possible mais embryons d'oie rarement disponibles

Méthode de choix car virus induisant des Ac neutralisants de haut titre et possibilité d'obtenir des CECP issues d'oeufs sans Ac au LVA de Lyon

Problème : possible mais non utilisé car très long.



## II-Discussion

L'exposé relativement rapide de l'état actuel de nos connaissances sur les principales maladies des anatidés montre la complexité qui règne encore dans ce domaine et fait ressortir toute l'importance que représente le diagnostic expérimental des virus au laboratoire dans le dépistage de ces maladies.

Par ailleurs, l'énumération et la description des différentes techniques pouvant être mises en oeuvre pour la réalisation de ce diagnostic ne semblent pas faire apparaître de grandes difficultés dans son application pratique systématique.

On est donc en droit de s'interroger sur les raisons pour lesquelles il n'a pas été possible d'arriver dans ce cas à la même organisation que celle d'usage courant pour le diagnostic bactériologique.

Il semble à priori que trois réponses puissent être apportées ayant trait :

- à la nouveauté du sujet,
- au caractère épidémiologique actuel de ces affections,
- au type de matériel biologique nécessaire.

### 1.- Nouveauté du sujet

Il est un fait qu'il y a encore à peine dix ans, il était admis que les anatidés étaient résistants aux virus et que plus loin, en arrière dans le temps, on ne s'intéressait guère à leur pathologie. Ce n'est donc qu'au cours de cette dernière décennie que des progrès ont été



effectués grâce à quelques chercheurs dont nous avons eu l'occasion d'évoquer les travaux précédemment. De plus, il faut également souligner qu'en matière d'oiseaux de basse-cour l'industrialisation de l'élevage a d'abord commencé par les volailles dont on s'est essentiellement préoccupé. En conséquence, études et recherches de laboratoire ont été axées sur ce sujet.

Nous sommes maintenant dans une phase où compte tenu d'une certaine maîtrise technique déjà acquise dans la virologie des maladies des volailles, et à la faveur d'une meilleure coordination des travaux sur la pathologie de l'oie et du canard avec le Comité International de Spécialistes de la question, il devient pensable d'envisager une pratique plus commune du diagnostic viral.

## 2° - Caractère épidémiologique des affections

Les grandes maladies des gallinacés (maladie de Newcastle, maladie de Marek ...) qui pendant de longues années ont causé tant de ravages, se manifestaient en vagues épizootiques dont certaines étaient de véritables fléaux. Cela explique tout l'intérêt qu'ont pris à leur étude les chercheurs pour mettre au point des moyens de lutte efficaces dont se sont également préoccupés aussi bien les gouvernements que divers organismes internationaux. Par ailleurs, leur diagnostic clinique est relativement facile et du point de vue expérimental on est finalement parvenu à une certaine maîtrise de cette pathologie.

Inversement, les maladies des palmipèdes qui autrefois ne posaient pas ou peu de problèmes, ont pris une acuité particulière à partir du moment où se sont développées les fortes concentrations d'animaux du fait de l'industrialisation. Il en résulte que la moindre épizootie dans un élevage peut entraîner une catastrophe économique. De plus, la similitude des symptômes et des



lésions rencontrés quel que soit le germe incriminé ne simplifie pas la tâche. Ceci implique donc la nécessité de connaître très rapidement l'agent en cause si l'on veut pouvoir agir de façon rapide et efficace. C'est pourquoi, étant donnée la dispersion des élevages sur le territoire, il serait souhaitable de pouvoir s'adresser pour un diagnostic à un laboratoire situé dans un périmètre assez proche du lieu concerné facilitant ainsi, d'une part, les expéditions et d'autre part, l'acquisition des commémoratifs.

### 3° - Type de matériel biologique nécessaire

Nous avons vu que l'isolement et la multiplication des virus des anatidés au laboratoire exigent l'utilisation soit d'oeufs embryonnés de l'espèce correspondante (oie ou canard), soit de cellules issues de ces mêmes oeufs n'ayant pas d'anticorps inhibant la multiplication de l'agent recherché. C'est une contrainte technique gênante qui constitue le problème essentiel à résoudre actuellement au laboratoire.

Les mêmes difficultés ont été rencontrées pour les virus des volailles. Elles ont été surmontées grâce à la réalisation d'élevages de poules spécialement conçus pour permettre d'obtenir des sujets indemnes de germes pathogènes et produisant ainsi des oeufs ayant la même qualité. Il s'agit des oeufs SPF ( specific pathogen free ) dont il existe maintenant des fournisseurs.

Tout est encore à faire dans ce domaine pour les oeufs d'oie et de cane. C'est d'ailleurs l'absence de tels oeufs SPF qui a été à l'origine de confusions dans les résultats de certains chercheurs dont le Professeur DERZSY. Toutefois, depuis trois ans environ, d'autres spécialistes ont pris conscience du problème



et c'est ainsi que HOEKSTRA d'un côté et COUDERT de l'autre ont élevé des canards de Barbarie et des oies indemnes d'anticorps parvovirus qui leur ont procuré des oeufs grâce auxquels leurs travaux ont rapidement avancé. Malheureusement, cette production est encore insuffisante et n'est pas sans soulever certaines difficultés techniques dans sa pratique.

Ces points étant admis, nous pouvons donc examiner quels sont les problèmes posés pour que des laboratoires régionaux et non spécialisés puissent songer à implanter dans leurs locaux des unités destinées au diagnostic des maladies virales des anatidés. Nous pouvons, nous semble-t-il, les considérer sous deux aspects :

- aspect financier,
- aspect technique.

a) Aspect financier

Les responsables de laboratoire sont en droit de craindre que la mise en place d'une unité de diagnostic viral telle que nous l'avons décrite soit un investissement coûteux. Or, si des locaux sont encore disponibles, la dépense importante réside dans l'achat d'une hotte à flux laminaire.

En considérant les frais d'exploitation, c'est contrairement à l'aspect technique, l'utilisation de la méthode sur culture de tissus qui donne le plus de satisfaction. Le passage sur animaux vivants étant toujours onéreux.



b) Aspect technique

Pour des laboratoires déjà équipés et entraînés dans le diagnostic bactériologique, passer aux techniques simples de diagnostics de virus tels que isolement et identification ne parait pas d'une complication extrême.

- en ce qui concerne les locaux, l'essentiel est surtout d'éviter les contaminations à tous les niveaux. Quant au matériel, il s'agit pour la plupart d'appareils, de verreries, ou d'instruments déjà utilisés en bactériologie. L'acquisition la plus importante à envisager est la hotte à flux laminaire.
- sur le plan des méthodes, il est incontestable que l'inoculation aux animaux sous réserve qu'ils n'aient pas d'anticorps reste aussi la plus commode à appliquer. Vient ensuite l'inoculation aux oeufs embryonnés SPF.

Mais la plus élégante et la plus élaborée reste la culture de tissus qui exige beaucoup plus de technicité de la part du personnel dont la qualité de manipulation doit être une garantie de la stérilité. C'est semble-t-il cette technicité qui a laissé planer sur le diagnostic viral un certain mystère dont a souffert son développement ailleurs que dans les instituts spécialisés. Actuellement, la formation du personnel nécessaire à ce type de travail offre moins de difficultés qu'autrefois et des stages sont possibles.





En résumé, les connaissances acquises récemment ont permis de mieux comprendre l'intérêt qu'il y avait à identifier rapidement l'agent causal des maladies à virus des anatidés mais des progrès sont encore à faire pour aboutir à un meilleur dépistage.

Pour y parvenir, avec le maximum de chance, il est souhaitable que des laboratoires de diagnostic relais existent entre le terrain et les instituts de recherche spécialisés.

Nous avons voulu dans cette dernière partie montrer qu'il n'y avait pas d'obstacles majeurs à leur création.



## CONCLUSIONS

Le développement de plus en plus important des élevages industriels de volailles a transformé la pathologie aviaire qui est actuellement à l'heure des virus. Il a suffi de créer ainsi de fortes concentrations d'oiseaux de même espèce pour, soit exacerber le pouvoir pathogène de certains virus, soit révéler la présence de nouveaux.

La même règle s'applique aux élevages industriels d'anatidés, d'origine plus récente, et dont la pathologie est dominée par trois grandes maladies virales : l'hépatite à virus du caneton, la peste du canard et la maladie de Derzsy ; les deux premières sont déjà connues depuis longtemps et la troisième est en pleine phase d'étude.



De plus, parallèlement aux succès obtenus contre ces affections par l'application de méthodes de prophylaxie adaptées, sont apparus d'autres virus d'identification difficile et venant compliquer le diagnostic.

Mais on dispose actuellement de techniques de laboratoire parfaitement rôdées qui permettraient, avec un minimum d'investissements et de technicité, d'assurer dans le laboratoire déjà en fonction le même service de dépistage pour les virus que pour les bactéries. C'est ce qu'il nous a paru souhaitable de pouvoir envisager sous la forme d'un diagnostic, relais entre le terrain et les instituts spécialisés.

**Vu :**

**LE DIRECTEUR**

de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,

**LE PROFESSEUR RESPONSABLE**

de l'École Nationale Vétérinaire,

**Vu :**

~~LE DOYEN,~~

**LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,**

**Vu et permis d'imprimer**

LYON, le

**LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ**

**D. GERTMAN**

LYON 1



ANNEXE n° I

EXTRAIT du TRAITE de ZOOLOGIE de GRASSE\*

FAMILLE des ANATIDES

( sous-classe des CARINATES )

( ordre des ANSERIFORMES )

( sous-ordre des ANSERIFORMES )

Cette famille renferme plus de 160 espèces avec en plus de nombreuses formes de remplacement géographique et comprend tous les types de palmipèdes les plus connus : cygnes, oies, canards.... Ce sont des oiseaux assez volumineux, à l'aspect lourd à terre, mais en principe nageant fort bien. Vol battu, rapide, grâce à des ailes larges et développées. Plumage varié de coloration très dissemblable souvent selon les sexes et les saisons. Organe copulateur du mâle très développé. Ponte en général de 5 à 12 oeufs.

Groupe très homogène mais de nombreuses adaptations, selon la marche, le vol et la natation. Groupe ne faisant défaut que sur le continent antarctique.

Division de ce groupe assez conventionnelle, du fait de l'homogénéité du groupe, en deux sous-familles :

- sous-famille des Ansérinés,
- sous-famille des Anatinés.

\* GRASSE (P.P.) : Traité de Zoologie, systématique, biologie, 1950  
Tome XV : Oiseaux - Systématique par J. BERLIOZ  
p. 877-883



A la sous-famille des Ansérinés se rattachent les cygnes, les oies et bernaches ( anser, branta, cygnopsis ) et les canards siffleurs (Dendrocygna) au tarse long, aux habitudes humicoles et arboricoles, vivant dans les deux Amériques, l' Afrique, et l'Asie tropicale.

La sous-famille des Anatinés est beaucoup plus nombreuse avec les types principaux suivants :

- + les Tadorne, Casarcas,
- + les canards percheurs (Aic) au plumage remarquablement ornementé chez les mâles et les canards des forêts tropicales (Cairina) qui se complaisent surtout dans les arbres. L'un de ces derniers (C. moscata L) est la souche sauvage des canards dits "de Barbarie", surtout dans les pays chauds, où il remplace les races issues du Col-Vert qui ne prospère bien que dans les pays tempérés.
- + les canards de surface (Anas et genres voisins)
- + les canards plongeurs ou Fuligules (Macreuses) et les Eiders dont on utilisait le duvet pour faire des édredons,
- + les Erismatures qui sont des plongeurs de rivières et déploient leurs ailes sous l'eau.
- + les Harles, mangeurs de poissons.



ANNEXE II

COMPOSITION du MILIEU F 10

| Nature                               | Con-<br>centra-<br>tion | Origine  | N° du<br>Catalog. | Formule          |                 |
|--------------------------------------|-------------------------|----------|-------------------|------------------|-----------------|
|                                      |                         |          |                   | croissance<br>ml | entretien<br>ml |
| F 10                                 | 10 x                    | Flow     | 1-082 E           | 40               | 40              |
| 199 ( Sel Hanks )                    | 10 x                    | Flow     | 1-044 E           | 32               | 32              |
| TBP ( tryptose,<br>phosphate broth ) | 29,5 g/l                | Difco    |                   | 40               | 40              |
| Bicarbonate de<br>Sodium             | 5,6 %                   | Merck    | 6329              | 20               | 20              |
| Antibiotiques<br>( Annexe II bis )   | 1                       |          |                   | 10               | 10              |
| Pimafucine                           | 2,5 %                   | Mycodarm |                   | 1                | 1               |
| Vitamines BME-MEM                    |                         |          |                   | 1                | 1               |
| Eau bidistillée QSP                  |                         |          |                   | 1 000            | 1 000           |
| Sérum de veau                        | Pur                     |          |                   | 40               | 20              |
| Liquide amniotique<br>bovin          | Pur                     | Flow     | 5-330 E           |                  |                 |

pH = 7,4    Δ t = 0,48

COMPOSITION du PBS (Phosphate buffer solution)

| Nature                           | Origine | N° de catalogue | Formule  |
|----------------------------------|---------|-----------------|----------|
| Na Cl                            | Merck   | 6404            | 8 g      |
| K Cl                             | -       | 4933            | 0,2 g    |
| MgCl 2                           | -       | 5833            | 0,1 g    |
| Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> | -       | 6580            | 1,441 g  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>  | -       | 4873            | 0,2 g    |
| CaCl 2                           | -       | 2382            | 0,132 g  |
| Eau bidistillée qsp              |         |                 | 1 000 ml |



ANNEXE III

COMPOSITION de la TRYPSINE

| Nature                            | Concentration | Origine | N° Catalogue | Formule |
|-----------------------------------|---------------|---------|--------------|---------|
| Trypsine                          | 2,5 %         | NBC     | -            | 60 ml   |
| PBS ( annexe 2)                   | 1             |         | -            | 930 ml  |
| Antibiotiques<br>( annexe 2 bis ) | 1             |         | -            | 10 ml   |

COMPOSITION de la TRYPSINE - VERSENE

| Nature                            | Concentration | Origine | N° Catalogue | Formule |
|-----------------------------------|---------------|---------|--------------|---------|
| <u>Solution A</u>                 |               |         |              |         |
| NaCl                              |               | Merck   | 6404         | 80 g    |
| KCl                               |               | Merck   | 4933         | 4 g     |
| Glucose                           |               | Merck   | 8342         | 10 g    |
| Antibiotiques<br>( Annexe 2 bis ) | 1             |         |              | 10 ml   |
| Eau QSP                           |               |         |              | 1000 ml |
| <u>Solution C</u>                 |               |         |              |         |
| EDTA                              | 1 %           | Fluka   |              |         |
| <u>Trypsine-versène</u>           |               |         |              |         |
| Solution A                        |               |         |              | 100 ml  |
| Solution C                        |               |         |              | 10 ml   |
| Trypsine                          | 2,5 %         | NBC     |              | 8 ml    |
| Antibiotiques<br>(annexe 2 bis )  |               |         |              | 2 ml    |
| Bicarbonate de sodium             | 5,6 %         | Merck   | 6329         | 7 ml    |
| Eau bidistillée QSP               |               |         |              | 1000 ml |



QUESTIONNAIRE EXQUETE - COMMEMORATIFS

1 - REPRODUCTEURS

1- Description élevage :

- Nom - Adresse :
- Nombre reproducteurs :
- Date d'éclosion :
- Type d'élevage :
- Comportement bande précédente :
  - pathologie :
  - ponte :

2- Plan vaccination suivi :

Référence bande reproducteurs :

- Nature du vaccin :
- Lot de vaccin :
- Dose :
- Voie d'inoculation :
- Dates d'inoculations :
- Âge des sujets à la vaccination :

3- Résultats :

- Courbe de ponte :
- Nombre d'oeufs mis en couveuse :
- Nombre embryons morts aux mirages n°1 %
- " " " n°2 %
- Éclosion : Nombre embryons éclos : %

4- Appréciations générales des performances :

II - CANETONS DE BARBARIE

1- Antécédents reproducteurs :

Voir paragraphe I.

2- Description de l'élevage :

- Nom - Adresse :
- Nombre sujets/bande :
- Date d'éclosion :
- Nombre de bandes :
- Type d'élevage :
- Comportement des bandes précédentes :
  - mortalité
  - croissance
  - emplumement
  - indice de consommation

3- Plan vaccination suivi :

- Référence bande :
- Nombre de sujets :
- Nature du vaccin :
- Numero du lot vaccin :
- Dose :
- Voie d'inoculation :
- Âge des sujets à la vaccination :
- Antibiotiques :

4- Résultats :

- Comportement de 1 jour à 5 semaines :
- Comportement de 5 à 12 semaines :
- emplumement :
- homogénéité du lot :
- Réaction vaccinale :

5- Appréciation générale des performances :

- 6- Abattages :
- Nombre de sujets enlevés : %
- Nombre de sujets prolongés : %
- Poids vaccinés :
  - mâles :
  - femelles :
- Indice de consommation :

III - OISONS

1- Antécédents reproducteurs :

Voir paragraphe I.

2- Description de l'élevage :

- Nom - Adresse :
- Nombre de sujets :
- Date d'éclosion :
- Type d'élevage :
- 3- Prophylaxie médicale :
- Sérumisation :
  - âge :
  - dose :
- Vaccination :
  - nombre d'inoculations
  - nature du vaccin :
  - numéro du lot vaccin :
  - nombre de sujets vaccinés :
  - âge au moment de la vaccination :
  - voie d'inoculation :
- Antibiothérapie :

4- Résultats :

- Comportement des sujets de 1 jour à 5 semaines :
  - homogénéité :
  - emplumement :
  - pesées :
    - à 8 semaines :
    - au gavage :
- Indice de consommation :
- Comportement des sujets de 5 semaines - au gavage :
  - homogénéité :
  - emplumement :
  - pesées :
    - à 8 semaines :
    - au gavage :
- Réaction vaccinale :
- 5- Appréciations générales des performances :



## BIBLIOGRAPHIE

1. ASPLIN (F.D. ), Mc LAUCHLAN (J.D. ), Vet. Rec. 1954, 66, (32), 456-58 : Duck virus hepatitis.
2. BREESE (S.S.Jr. ), DARDIRI (A.H. ), Virology 34 160 (1968).
3. CARRIE (C. ), Thèse Doctorat Vétérinaire Toulouse 1972 : Le canard mulard - Elevage et pathologie.
4. CHERBY (J. ), Rec. Med. Vet. , 1967, tome 143 : Prophylaxie médicale de l'hépatite virale du canard .
5. CHERBY (J. ), Revue Med. Vet. , 1967, 118, 3, 241 : Vaccination du caneton contre l'hépatite virale .
6. CLEEF (S.A.M. Van), MILTENBURG (J.Th. ), Tijdschr. Diergeneesk. 91, 6, 1966. En crustige acuit verlopende virusziekte bij ganzekiukens gepaard gaande met grote sterfte.
7. CORREA (W.M. ), Rev. Fac. Med. Vet. , 1967, 6, 43-52 : Notas preliminares sobre hepatited virus dos marrecos no Brasil (cité d'après 64).
8. COUDERT (M. ), FEDIDA (M. ), DANNACHER (G. ), PEILLON (M. ) LABATUT (R. ) et FERLIN (P. ), Rec. Med. Vet. , 1972, 148, 455-472 : la maladie dite " maladie à virus de l'oison".
9. COUDERT (M. ), DANNACHER (G. ), FEDIDA (M. ), PEILLON (M. ), Rec. Med. Vet. 1973, 149, 197-208 : Prophylaxie de la maladie à virus de l'oison.
10. COUDERT (M. ), FEDIDA (M. ), DANNACHER (G. ), et PEILLON (M. ) Rec. Med. Vet. 1974, 150, 899-901 : La maladie à parvovirus de l'oison : la forme tardive.
11. CSONTOS (L. ), Acta Veterinariae Academiae Scientiarum Hungaricae (1967), 17, 2, 217-219 : Isolation of adenoviruses from geese.
12. CSONTOS (L. ) et KIS CSATARI (M. ) Magy allatottv. lap. , 1967 n°1, 9 et 11 : Etiological Studies on goose influenza.I. virus isolation.



13. CSONTOS (L.) et KIS-CSATARI (M.) : *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae Tomus 17* (1), (1967), 107-114  
Etiological studies on gosling influenza. Isolation of a virus.
14. DANNACHER (G.), COUDERT (M.), FEDIDA (M.), PEILLON (M.)  
FOUILLET (X.), *Rec. Med. Vet.* 1972, 148, 1333-1349 : Etiologie  
de la Maladie à virus de l'oison.
15. DANNACHER (G.), FOUILLET (X.), COUDERT (M.), FEDIDA (M.)  
PEILLON (M.) *Rec. Med. Vet.* 1974, 150, 1, 49-58 : Etiologie de  
la maladie à virus de l'oison : le virus bêta.
16. DARDIRI (A.H.), *Archiv. für die gesamte Virusforschung* 27, 55-64  
(1969) : Attenuation of duck plague virus and its propagation in cell  
culture.
17. DARDIRI (A.H.), HESS (W.R.), *Proceedings of the seventy first  
animal meeting. U.S. Livestock Sanitary Assoc.* (1967) p. 225-237 :  
The incidence of neutralizing antibodies to DP virus in serums  
from domestic ducks and wild waterfowl in the U.S.A.
18. DERZSY (D), *Year book, vol. II of the Vet. Med. Res. Inst.  
Hungarian Academy of Science 1964-1969* p. 79-88 : a viral disease  
of goslings.
19. DERZSY (D.), *Acta Vet. Acad. Sci. Hungaricae* 1967, 17, 443-448,  
A viral disease of goslings. I. Epidemiological, Chemical, Patho-  
logical, and Etiological Studies.
20. DEVOS (A.), VIAENE (N.), STAELENS (M.), *Vlaams Diergenees-  
kundig tijdschrift* (1964), 33, 260-266 Eendepes in België.
21. DORSSEN (C.A. Van), KUNST (H.), *Tijdschrift Diergeneesk*, 1955,  
80, 24 : Susceptibility of ducks and various other waterfowl to duck  
plague virus.
22. GAUDRY (D.), PRECAUSTA (P.), SAINT-AUBERT (G. de),  
FONTAINE (J.), JANSEN (J.), WEMMENHOVE (R.), KUNST (H.) :  
*Rev. Med. Vet.* (1970), 121, 317-330, Mise en évidence d'agents  
infectieux dans un élevage de canards de Barbarie.
23. GAUDRY (D.), TEKTOFF (J.), CHARLES (J.M.), *Bull. Soc. Sci.  
Vet. et Med. comparée Lyon* (1972), 74, p. 137-143. A propos d'un  
nouveau virus isolé chez le canard de Barbarie.



24. GAUDRY (D. ), TEKTOFF (J. ), Congrès W V P A, Munich 1973  
Sept. : Caractères essentiels de 3 souches virales isolées chez le  
canard de Barbarie.
25. GAUDRY (D. ), Symposium for goose disease, Doorn Holland 1974 :  
Diagnostic of a mild form of the DVE and vaccination results in an  
infected farm.
26. GODEFROY (B. ), Journées de recherches avicoles et cunicoles Déc.  
1973. Essai de prévention de l'hépatonéphrite ascite du canard de  
Barbarie avec un sérum hétérologue.
27. GUILLON (J. C. ), RENAULT (L. ), Bull. Acad. Vét. France 1960,  
38, 237-243. Sur l'existence en France de l'hépatite à virus du  
caneton (cité d'après 4).
28. HALL (S. A. ), SIMMONS (J. R. ), Vet. Rec. 1972, 90, (24), p. 691.  
Duck plague in Britain.
29. HANSON (L. E. ), RHOADES (H. E. ), SCHRICKER (R. L. ), Collège  
Vet. Med. Urbana Illinois 1963 : Properties of duck hepatitis virus.
30. HESS (N. R. ), et DARDIRI (A. H. ), Archiv. für die gesamte Virus-  
forschung 24, 148-153, (1968). Some properties of the virus of  
duck plague.
31. HIGGINS (D. A. ), Trop. Anim. Hlth. Prod. (1971), 3, 232-240, (4).  
Nine disease outbreaks associated with myxoviruses among ducks  
in Hong-Kong.
32. HOEKSTRA (J. ), et SMIT (Th. ), Intern. Symp. on feeding and  
hygiène of goose 24-30, Oct. 1971 Budapest Hongrie. Recent experien-  
ces with goose plague in Holland.
33. HOEKSTRA (J. ), SMIT (Th. ), CORRIE VAN BRAKEL, Avian patho-  
logy 1973, 2, 3, 169-178. Observations on host range and control  
of goose virus hepatitis.
34. HOEKSTRA (J. ), Report congress Munich 1973.
35. HWANG (J. ), Vet. research, 1970, 31, (4) : Immunizing breeder  
ducks with chicke embryo-propagated Duck Hepatitis Virus for  
production of parental immunity in their progenies.



36. HWANG (J. ), JAVMA, vol 157, n°12 (2106-2108) . An epornitic of type A Influenza virus infection in ducks.
37. JANSEN (J. ), Editeur l'Expansion. Les maladies animales à virus: la peste aviaire - la peste du canard. (1971).
38. JANSEN (J. ), J.Comp. Path. col. 74,p. 3-7, (1964). The interference phenomenon in the development of resistance against duck plague.
39. JANSEN (J. ), Tijdschr. Diergeneesk. deel 91, af. 13, (1966), The immunity a good year after vaccination against duck plague.
40. JANSEN (J. ), et KUNST (H. ), Proceedings XIV International Veterinary Congress London (1949), 2, 363-365. Is duck plague related to Newcastle disease or to fowl plague ?
41. JANSEN (J. ), et KUNST (H. ), Tijdschr. Diergeneesk. (1964), 89, 765-769. The reported incidence of duck plague in Europe and Asia.
42. JANSEN (J. )et KUNST (H. ), Tijdschr. Diergeneesk. 89, 17, (1964) Vaccination by addition of attenuated virus to the drinking water.
43. JANSEN (J. ) et KUNST (H. ), Tijdschr. Diergeneesk. , deel 92, afl. 10 (1967). Can the avirulent chicken-egg adapted vaccine strain against duck plague regain its natural virulence ?
44. JANSEN ( J. ) et WEMMENHOVE (R. ), Tijdschr. Diergeneesk. 1965 90, 11, Duck plague in domesticated geese (anser anser).
45. KASCHULA (V.A. ), J.S. Afr. Vet. Med. Ass. (1968), 21, (1), p. 18-26. A new virus disease of the Muscovy Duck present in Natal.
46. KISARY (J. ) Avian Pathology, 1974, vol. 3, n°4, 293-296. Cross neutralization tests on parvoviruses isolated from goslings.
47. KISARY (J. ), DERSZY (D. ), Magy Allatorv. Lap. , 1975, 3, 199. Characterisation and classification of the causative agent of the so-called goose-influenza.
48. KONTRIMAVICHUS (L.M. ) et coll. , Vet. Moscou 43, (12), 34-36, 1966. Infectious enteritis in goslings.
49. KRAUSS (H. ) Berl. Münich. Tierärztl. Wochenschr. 1965, 78, 372-375. Eine verlustreiche Aufzuchtkrankheit bei Gänseküken.



50. KRAUSS (H.), Deutsch. Geflügelwirtschaft, 51, 1966. La peste des oisons.
51. KUNST (H.) Neth. J. Vet. Sci., 1, 2, 1968, Duck plague virus investigation in vitro.
52. KUNST (H.) Tijdschrift Diergeneesk, 92 713-714, (1967), Isolation of Duck plague virus in tissue cultures.
53. LEIBOWITZ (L.) Bull. Wildlife Disease Assoc., (1968), 4, p. 87-88, Duck plague surveillance of american anseriformes.
54. LEIBOWITZ (L.) et HWANG (J.) Avian Diseases (1968), 12, 361-378, Duck plague on the American Continent.
55. LEVINE (P.) et FABRICANT (J.), Cornell Vet. 1950, 40, 71-86, A hitherto-undescribed virus disease of ducks in North America.
56. Mac PHERSON (L. V.) et AVERY (R. J.) Canad. J. Comp. Med. (1957) 21, 26 : Duck virus hepatitis in Canada ( cité d'après 64 ).
57. MANDELLI (G.), RINALDI (A.), CESSI (D.), CERVI (G.), LODETTI (E.), VALERI (A.). Atti della Soc. Ital. delle Sci. Vet. 24 (1970) p. 654-656. Observations en microscopie électronique dans la soi-disant grippe de l'oie.
58. MANDELLI (G.), VALERI (A.), RINALDI (A.), LODETTI (E.), Folia veterinaria latina, 1 , (1), (1971), p. 121-170 : Reperti istologici ed ultramicroscopici di una malattia virale delle giovani oche.
59. MATUSKA (P.). Journées de l'oie Mai 1967 Jouy en Josas : La genèse des différentes espèces d'oies et leur répartition géographique.
60. MUKERJI (A.), DAS (M. S.), GHOSH (B. B.), GANGULY ( J. L. ), Indian Veterinary Journal (1963), 40, 457-462, Duck plague in West Bengali.
61. REED (L. J.), et MUENCH, Am. J. Hyg. 1938, 27, 493-497 : A simple method of estimating fifty per cent end points (cité d'après 4).
62. RISPENS (B.H.), Thèse 1966: The control of Virus Hepatitis in Ducklings, Centraal Diergeneeskundig Instituut Afdeling Rotterdam Editeur : H. E. Stenfert Kroese N. V.
63. ROSSI (C.) et PINI (A.) Vet. Ital. (1957), 8, 1175-1189, (cité d'après 64); l'epatite da virus degli anallroccoli osservazione e ricerca.



64. SAZAWA (H.) et coll., Nat. Inst. Anim. Hlth. Quart. (1963), 3, (62), Isolation and behavior of duck hepatitis virus in Japan.
65. SCHETTLER (C.H.), Avian diseases 15, (2), (1971), Isolation of a highly pathogenic virus form geese with hepatitis.
66. SCHETTLER (C.H.) Avian disease, 15, (4), (1971), Virus hepatitis of geese. II. Host range of goose hepatitis virus.
67. SCHETTLER (C.H.) Dtsch. tierärztl. Wschr. (1962), 79, 202-203 Nachweiss der vertikalen Übertragung des virus der Gänsehepatitis.
68. SCHETTLER (C.H.) Vth European Poultry Conference, Malta, Sept. 1976. Differential diagnostic important features of goose hepatitis and the hemorrhagic nephritis and enteritis of geese (HNEG).
69. SCHYNS (P.), Med. Vet. (1957), 4, 264-271 :L' hépatite à virus du caneton ( cité d'après 64).
70. SHEHATA (H.), REUSS (U.), Dtsch. tierärztl. Wschr. (1957), 64, 27-29. Virus Hepatitis der Enten in Deutschland.
71. SICADOUR Imprimeur Castay 40800 - Publication 1975 :L'oie et le canard.
72. SMITS (W.H.) tijdschr. Diergeneesk. (1967), 5, 117-118 : Voorlopige medeling betreffende een virusziekte bij eendkuiken ( cité d'après 64).
73. SNYDER (S.B.), FOX (J.G.), CAMPBELL (L. M.), TAM (K.F.) SOAVE (O. A.), JAVMA ( 1973) 163 (6), 647-652 - An epornitic of Duck virus enteritis (Duck Plague) in California.
74. SYPROCAB N.A. n° 222 1er N° Février 1975 - Principaux aspects technico-économiques de l'élevage du canard de Barbarie.
75. TOTH (T.E.), AVLON Bio. ( 1969), 13, (4) : Studies of an agent causing mortality among ducklings immune to duck virus hepatitis.
76. TOTH (T.E.), JAVMA letters Jan. 13, 1969.
77. TOTH (T.E.) D.V.M., Am. J. Vet. Res. Vol. 31, n° 7 (1970) Active immunization of white Pekin Ducks against DVE (DP) with modified-live-virus vaccine. Immunisation of ducklings.



78. TOTH (T.E.), D.V.M., Am J. Vet. Res. Vol. 32, n° 1 (1971)  
Active immunization of white Pekin Ducks against DVE (DP) with  
modified-live-virus vaccine : serologic and immunologic response  
of breeder ducks.
79. VUILLAUME, N.A., n° 221, 2ème n° Janvier 1975 - Dominantes  
pathologiques chez les Palmipèdes.









